

**PEMILIHAN JENIS KERTAS DALAM MENENTUKAN SENSITIVITAS
PILATOR (*RAPID SALMONELLA DETECTOR*) BERBASIS *COLORIMETRIC*
BIOSENSOR DENGAN TAHAPAN WAKTU YANG BERBEDA**

Oleh:

ANI MASRUROH

NIM. 145100500111002

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pertanian**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

2018

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Pemilihan Jenis Kertas dalam Menentukan Sensitivitas
PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*) Berbasis
Colorimetric Biosensor dengan Tahapan Waktu yang
Berbeda

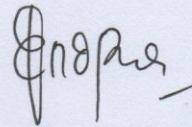
Nama Mahasiswa : Ani Masrurah
NIM : 145100500111002
Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian

Pembimbing Pertama,



Ir. Wahono Hadi Susanto, MS
NIP. 19530410 198002 1 002

Pembimbing Kedua,



Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP
NIP. 19850925 201212 2 002

Tanggal Persetujuan:

Tanggal Persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Pemilihan Jenis Kertas dalam Menentukan
Sensitivitas PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*)
Berbasis *Colorimetric Biosensor* dengan Tahapan
Waktu yang Berbeda

Nama Mahasiswa : Ani Masrurah

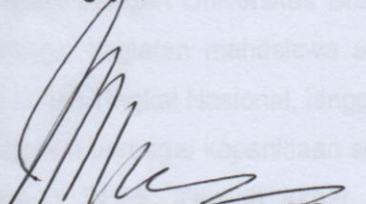
NIM : 145100500111002

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,


Ir. Wahono Hadi Susanto, MS
NIP. 19530410 198002 1 002


Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP
NIP. 198509252012122002

Ketua Jurusan,


Prof. Dr. Teti Estiasih, STP, MP
NIP. 19701226 200212 2 001

Tanggal Persetujuan:

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Talang Asahan, Lampung pada tanggal 24 September 1996 dari pasangan suami istri Imam Solikhin dan Markamah. Penulis merupakan anak kedua dari 2 bersaudara. Penulis menempuh jenjang Sekolah Dasar di SDS Tanggamus untuk 1 tahun dan dilanjutkan ke SDN Siraman 01, dan selesai pada tahun 2008. Selanjutnya meneruskan ke SMPN 01 Kesamben dan lulus pada tahun 2011 serta menyelesaikan

pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMAN 1 Kesamben pada tahun 2014.

Tahun 2018 menjadi tahun paling bersejarah bagi penulis karena berhasil menyelesaikan pendidikannya pada tingkat Strata 1 di Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Brawijaya. Selama pendidikannya, penulis aktif diberbagai kegiatan mahasiswa seperti organisasi, kepanitiaan, lomba Karya Tulis Ilmiah Tingkat Nasional, hingga Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional. Penulis aktif dalam berbagai kepanitiaan sebagai koordinator hingga steering committee seperti di BHFF, Tabligh Akbar, AMB, PEMIRA UB, dan lain-lain. Riwayat organisasi penulis yaitu pernah 2 tahun menjabat sebagai pengurus harian di *Forum Kajian Islam Teknologi Pertanian* (FORKITA) sebagai Sekretaris departemen dan Kepala departemen.

Pada awal semester tepatnya semster 3, penulis pernah mengikuti ajang *Business Plan* yang diadakan oleh LKM ABC di fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Selanjutnya penulis juga pernah mengikuti *Business Plan* dan menjadi semi finalis dalam acara TPHP *Food Preneur Challenge* yang diadakan di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada (UGM) pada tahun 2015. Kemudian penulis juga pernah mengikuti *Kopma Fair* dan berhasil menjadi finalis 20 besar *Healthy Dessert-Preneur* yang diadakan oleh Fakultas Kesehatan Masyarakat (FKM) Universitas Indonesia.

Penulis aktif mengikuti program pendanaan yang diadakan KEMRISTEKDIKTI untuk Bidang PKM-KC (Karsa Cipta) tahun 2016, dan telah lolos pendanaan pada Program Kreativitas Mahasiswa tahun 2016. Setelah itu, pada tahun 2017, penulis berhasil meraih mendali perunggu presentasi di Pekan

Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) XXX Bidang Karsa Cipta (KC) tahun 2017. Penulis juga aktif mengikuti seminar publikasi pada Seminar dan Expo Harmoni Karya Anak Bangsa pada tahun 2016, kemudian Seminar Nasional Teknologi Karya Anak Bangsa (SIENTESA) tahun 2017 serta seminar publikasi beserta Expo Internasional pada *Young Scientist International Seminar and Expo* (YSIS) tahun 2017.

Penulis berharap karya – karya tersebut tidak hanya berhenti sampai disitu saja namun dapat dilanjutkan dan dikembangkan untuk terus memotivasi menciptakan karya yang baru.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah.....

Terimakasih Ya Allah...

Dengan proses yang kutempuh selama ini,
aku menyadari bahwa Ilmu-Mu sangatlah luas..
dan karya kecil ini aku persembahkan kepada
Kedua Orang Tuaku dan Kakakku tercinta

PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama Mahasiswa : Ani Masruroh
NIM : 145100500111002
Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian
Judul : Pemilihan Jenis Kertas dalam Menentukan
Sensitivitas PILATOR (*Rapid Salmonella
Detector*) Berbasis *Colorimetric Biosensor*
dengan Tahapan Waktu yang Berbeda

Menyatakan bahwa,

Tugas akhir dengan judul diatas merupakan karya asli penulis tersebut diatas.
Apabila dikemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar, saya bersedia dituntut
sesuai hukum yang berlaku.

Malang, 17 Januari 2018
Pembuat Pernyataan,

Ani Masruroh

NIM. 145100500111002

Ani Masruroh. 145100500111002. Pemilihan Jenis Kertas dalam Menentukan Sensitivitas PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*) Berbasis *Colorimetric Biosensor* dengan Tahapan Waktu yang Berbeda . SKRIPSI. Dosen Pembimbing : Ir. Wahono Hadi Susanto, MS dan Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP

RINGKASAN

Keamanan pangan dewasa ini menjadi hal yang sangat diperhatikan. Namun tidak dipungkiri bahwa penyakit dapat datang darimana saja, termasuk dari pangan yang menjadi kebutuhan pokok sehari-hari. *Foodborne disease* adalah penyakit akibat bakteri yang ada pada makanan. Salah satunya yaitu bakteri *Salmonella*. Maka dari itu, diciptakan sebuah alat untuk mendeteksi keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan yaitu PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*). Alat ini merupakan alat pendeteksi dengan tiga zona yaitu zona sampel, zona reaksi, dan zona hasil. Dimana jika terdeteksi adanya *Salmonella*, maka pada zona hasil tersebut akan membentuk warna biru keunguan. Namun jika tidak mengandung *Salmonella*, maka tidak akan ada perubahan warna yang terjadi. Alat sebelumnya yang sudah komersil masih memiliki banyak kekurangan diantaranya waktu yang lama, harga relatif mahal, ataupun hasil yang kurang akurat. Hal itu disebabkan karena kualitas bahannya kurang bagus, termasuk jenis kertas yang digunakan sebagai *platform*. Maka dari itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis kertas apa yang sesuai untuk *platform* PILATOR. Supaya alat PILATOR ke depannya dapat menjadi alat yang lebih baik dibandingkan dengan alat sebelumnya.

Metode pelaksanaan penelitian ini antara lain studi literatur, desain alat PILATOR, fabrikasi atau pembuatan PILATOR, dan pengujian PILATOR. Pada penelitian ini digunakan tiga jenis kertas yaitu Whatman no.1, kertas Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan kertas nitroselulosa. Dari ketiga kertas tersebut dihasilkan bahwa kertas whatman merupakan kertas yang paling sesuai untuk dijadikan *platform* PILATOR. Karena nilai intensitas warna yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan kertas lain yaitu rata-rata 199,66. Selain itu, waktu yang dibutuhkan untuk pendeteksian yaitu 10 menit. Kemudian warna biru yang dihasilkan akan konstan (optimum) pada menit ke-25. Terbukti bahwa dengan pendeteksian menggunakan PILATOR, waktu deteksi akan lebih cepat, mudah digunakan, dan hasil lebih akurat.

Kata Kunci : Jenis Kertas, PILATOR, *Platform*, *Salmonella*

Ani Masruroh. 145100500111002. Paper Types Selection to Determining PILATOR Sensitivity (Rapid *Salmonella* Detector) Based on Colorimetric Biosensor with Different Times. Undergraduate Thesis. Supervisor : Ir. Wahono Hadi Susanto, MS and Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP

SUMMARY

Food safety nowadays is a matter of great concern. However it is undeniable that diseases can come from anywhere, including from food that become a daily necessity. Foodborne disease is a bacterial disease that occurs in food. One of them is Salmonella bacteria. Therefore, a tool was created to detect the presence of Salmonella in foodstuffs namely PILATOR (Rapid Salmonella Detector). This tool is a detector with three zones namely sample zone, reaction zone, and zone of results. Where if it detects the presence of Salmonella, then the zone results will form a purplish blue color. However, if it does not contain Salmonella, then there will be no color changes that occur. Previous commercial tools still have shortages such as a time-consume, relatively expensive price, or less accurate results. This is because the quality of the material is not good, one of them is the type of paper used as a platform. Therefore, this study aims to know what kind of paper is appropriate for the PILATOR platform. In order for the PILATOR tool in the future to be a better tool than the previous tool.

Methods used in the implementation of this research includes literature study, design tool of PILATOR, fabrication or manufacture of PILATOR, and testing PILATOR. This study used three types of papers, Whatman no.1, Thin Layer Chromatography (TLC) paper, and nitrocellulose paper. Among the three papers used, whatman paper is the most suitable paper to serve as the PILATOR platform. Because the value of the resulting color intensity is lower than the other papers which averages 199.66. In addition, the time required for detection is 10 minutes. Also the resulting blue color is constant (optimum) in the 25th minute. Proven that with the detection using PILATOR, detection time will be faster, easier to use, and results are more accurate.

Keywords : *Type of Paper, PILATOR, Platform, Salmonella*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur bagi Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala rahmat, kuasa, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Tugas Akhir ini berjudul “Pemilihan Jenis Kertas dalam Menentukan Sensitivitas PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*) Berbasis *Colorimetric Biosensor* dengan Tahapan Waktu yang Berbeda”. Dalam penyusunan laporan akhir ini, tidak sedikit hambatan yang dihadapi, namun atas bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak maka penulis dapat menyelesaikannya dengan baik. Untuk itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tua tercinta, kakak, dan seluruh keluarga yang selalu mendukung dan mendoakan penulis.
2. Bapak Ir. Wahono Hadi Susanto, MS., selaku dosen pembimbing I Tugas Akhir yang selalu membantu dan memberikan arahan yang sangat berarti bagi penulisan laporan ini.
3. Ibu Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP., selaku dosen pembimbing II Tugas Akhir sekaligus pembimbing PKM-KC PILATOR yang selalu memberikan arahan, semangat, dan motivasi dalam menyelesaikan laporan ini.
4. Prof. Dr. Teti Estiasih, STP, MP., selaku ketua jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya.
5. Keluarga besar Forum Kajian Islam Teknologi Pertanian (FORKITA), tempat saya berorganisasi selama 3 tahun dari menjadi staf hingga menjadi pengurus harian, yang tentunya selalu memberi saya semangat untuk menyelesaikan amanah ini, menjadi wadah untuk menjadi pribadi yang lebih baik, mengelola organisasi, mengelola sumber daya manusia, mengingatkan dan yang mengajak dalam hal kebaikan.
6. Seluruh anggota Tim PKM-KC PILATOR yaitu Rika, Yunita, Maria, dan Mbak Mursidah yang telah berjuang bersama untuk PIMNAS XXX hingga meraih medali perunggu presentasi PKM-KC. Semoga kita masih bisa terus berjuang dan bermanfaat di manapun kita berada.
7. Keluarga UKHTO CANTIK yaitu Andika, Putri, Anjar, dan Imah yang

selalu menghibur, memberi semangat, teman dari maba yang sama – sama berjuang menjadi lebih baik, dan selalu mendukung penulis .

8. Keluarga “Kosan Cuncun” yaitu Suci, Peri, Mifta, dan Lastri yang selalu memberi semangat, motivasi, dukungan, dan doa kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
9. Teman-teman “Pejuang THP angkatan 2014”, yang selalu bersama-sama berusaha tegar dan tangguh untuk menghadapi segala rintangan dan cobaan yang ada.
10. Dan seluruh pihak yang turut terlibat dalam penyusunan laporan ini.

Penulis menyadari dalam Tugas Akhir ini masih adanya keterbatasan pengetahuan, referensi dan pengalaman. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik dan saran untuk perbaikan di kemudian hari.

Akhirnya, harapan penulis semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun semua pihak yang membutuhkan

Malang, Januari 2018

Ani Masruroh

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Luaran yang Diharapkan	2
1.5 Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Biosensor	4
2.2 Antibodi	6
2.3 Jenis Kertas	8
2.4 Bakteri <i>Salmonella sp</i>	11
2.5 Berbagai Jenis Kertas yang Telah Digunakan untuk Mendeteksi Bakteri	14
BAB III. DESAIN TEKNOLOGI	14
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Rancangan Implementasi PILATOR	16
3.4 Pendekatan Penelitian	16

3.5 Metode Perancangan <i>Prototype</i> PILATOR	18
3.6 Metode Pengujian Prototype PILATOR.....	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Biosensor PILATOR (<i>Rapid Salmonella Detector</i>)	23
4.2 Prinsip Kerja PILATOR (<i>Rapid Salmonella Detector</i>)	24
4.3 Hasil Pengujian <i>Prototype</i> PILATOR.....	25
4.4 Rencana Implementasi dan Aplikasi di Masyarakat	38
BAB V. PENUTUP	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Antibodi	6
Gambar 2.2	Reaksi Antigen-Antibodi	7
Gambar 2.3	Kertas Whatman® No.1	9
Gambar 2.4	Kertas Kromatografi Lapis Tipis Plat Aluminium	10
Gambar 2.5	Kertas Nitroselulosa	11
Gambar 3.1	Diagram Alir Tahapan Kegiatan	16
Gambar 3.2	Bagian-Bagian Alat PILATOR	18
Gambar 3.3	Fabrikasi Biosensor	20
Gambar 3.4	Diagram Alir Fabrikasi Biosensor	20
Gambar 4.1	Desain PILATOR (<i>Rapid Salmonella Detector</i>) dan Kemasan	23
Gambar 4.2	Desain <i>Prototype</i> PILATOR.....	24
Gambar 4.3	Prinsip Kerja Alat.....	25
Gambar 4.4	Grafik Pengujian Sensitivitas Warna Kertas Whatman pada Konsentrasi <i>Salmonella</i> 10 ⁸ CFU mL ⁻¹ terhadap Waktu	26
Gambar 4.5	Grafik Pengujian Sensitivitas Warna Kertas Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada Konsentrasi <i>Salmonella</i> 10 ⁸ CFU mL ⁻¹ terhadap Waktu	29
Gambar 4.6	Grafik Pengujian Sensitivitas Warna Kertas Nitroselulosa pada Konsentrasi <i>Salmonella</i> 10 ⁸ CFU mL ⁻¹ terhadap Waktu	32
Gambar 4.7	Grafik Perbandingan Sensitivitas Warna terhadap Waktu dari Masing-Masing Jenis Kertas pada Konsentrasi <i>Salmonella</i> 10 ⁸ CFU mL ⁻¹	36
Gambar 4.8	<i>Singlepath</i> ® <i>Salmonella</i> GLISA	42
Gambar 4.9	<i>Hygiena</i> TM <i>InSite Salmonella</i> dan Hasil Uji Alat.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Berbagai Jenis Kertas yang Telah Digunakan untuk Deteksi Bakteri	14
Tabel 4.1 Hasil Uji Kolorimetri Sensitivitas Warna dengan Kertas whatman® no. 1	28
Tabel 4.2 Hasil Uji Kolorimetri Sensitivitas Warna dengan Kertas Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	31
Tabel 4.3 Hasil Uji Kolorimetri Sensitivitas Warna dengan Kertas Nitroselulosa	34
Tabel 4.4 Hasil Uji Kolorimetri Sensitivitas Warna Secara Kualitatif dari Masing-Masing Jenis Kertas	37
Tabel 4.5 Perbandingan PILATOR dengan Alat Pendeteksi Salmonella yang Telah Komersil	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Analisis Parameter Warna dari Berbagai Jenis Kertas ...	54
Lampiran 2 Perhitungan Harga Pokok Produksi Pembuatan PILATOR	59
Lampiran 3 Dokumentasi Pembuatan PILATOR	60
Lampiran 4 Publikasi PILATOR	61
Lampiran 5 Sertifikat Juara 3 Kategori Presentasi PIMNAS XXX	65
Lampiran 6 Penghargaan Surat Keputusan Bebas Skripsi oleh Fakultas kepada Kontingen PIMNAS XXX	66

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keamanan pangan dewasa ini menjadi hal yang sangat penting di Indonesia. *Foodborne disease* yang disebabkan karena bakteri patogen menjadi salah satu hal yang menghalangi terjaminnya keamanan pangan (Sutejo, 2016). Salah satu bakteri patogen yang sering menyebabkan *foodborne disease* ialah *Salmonella*. Bakteri *Salmonella* menjadi penyebab dari 16,6 juta kasus keracunan makanan dan 600.000 kasus kematian di seluruh dunia setiap tahunnya. *Salmonellosis* dapat menimbulkan beberapa gejala, diantaranya gastroenteritis, demam enteric seperti demam tifoid dan demam paratifoid (Poeloengan dkk, 2014). Menurut data Kementerian Pertanian pada tahun 2014, potensi *Salmonellosis* pada bahan pangan dapat terjadi karena kontaminasi dari ternak, kontaminasi proses produksi dan cara pemasakan kurang matang. Untuk menghindari adanya *Salmonellosis* yang berkelanjutan, dibutuhkan adanya teknologi berupa pendeteksian keberadaan cemaran *Salmonella*.

Metode kualitatif pendeteksi *Salmonella* berbasis biosensor merupakan salah satu instrumen analisis yang tepat karena mempunyai daya analisis selektif dan sensitif terhadap analit sehingga dapat menentukan kadar suatu senyawa pada konsentrasi sangat rendah (Situmorang, dkk. 2007). Hal tersebut dikarenakan biosensor memiliki sebuah alat terintegrasi yang dapat memberikan data spesifik analisis baik secara semi kuantitatif maupun secara kuantitatif menggunakan elemen biologis sebagai biorecognition yang secara langsung kontak dengan elemen *transducer* (Koyun, 2012). Biosensor kalorimetri merupakan jenis biosensor yang paling mudah digunakan karena langsung dapat diamati secara langsung. Antigen spesifik yang terdapat pada *Salmonella* akan berikatan dengan antibodi spesifik yang telah diletakkan pada *platform*, antibodi yang membawa antigen akan bergerak dan merubah warna menjadi biru keunguan jika hasilnya positif, namun jika hasilnya negatif, maka artinya antibodi tidak bisa mengikat antigen, sehingga tidak ada perubahan warna yang terjadi (Koyun, 2012).

Biosensor yang digunakan adalah jenis immunosensor yang menggunakan interaksi antara antigen dan antibodi. Alat ini mempunyai 2 komponen yang berperan penting. Komponen utama adalah komponen biologis yang bertindak sebagai pendeteksi utama analit yang dapat berupa enzim, antibodi, DNA, dan

whole cell dan komponen kedua adalah *transducer* yang berperan penting dalam mengubah perubahan biokimia yang terjadi (Corcuera *et al.*, 2003). PILATOR dibuat dengan mengkombinasikan enzim, kolorimetrik dalam *platform* kertas sebagai detektor *Salmonella* pada bahan pangan yang cepat, praktis dan akurat.

Penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa penggunaan kertas untuk suatu tes deteksi dinilai lebih efisien dalam waktu dan tahapan prosesnya. Handono dkk (2017) menambahkan bahwa penggunaan kertas untuk suatu deteksi memang cukup akurat, namun dalam prosesnya seringkali masih membutuhkan waktu yang lama. Pernyataan tersebut diperkuat oleh beberapa pakar yang telah melakukan penelitian mengenai berbagai jenis kertas untuk mendeteksi adanya mikroba. Diantaranya adalah Mustafa *et al.* (2017) yang mendeteksi adanya *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium* menggunakan *Thin Gold Layer*. Selain itu, Costa *et al.* (2014) yang mendeteksi adanya *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan kertas nitroselulosa yang hasilnya cukup akurat namun masih membutuhkan waktu yang cukup lama. Kemudian Ali *et al.* (2017) meneliti tentang adanya *Escherichia coli* menggunakan kertas whatman dengan hasil tidak memerlukan waktu yang lama namun sensitivitasnya masih belum akurat. Dari hasil penelitian tersebut, masih memiliki kekurangan seperti waktu deteksi yang lama ataupun hasil yang kurang akurat. Maka dari itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui sensitivitas dari berbagai jenis kertas supaya dapat diamati jenis kertas apa yang paling akurat dan efektif untuk digunakan sebagai *platform*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana desain PILATOR untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Salmonella* pada bahan pangan?
2. Bagaimanakah pengaruh jenis kertas sebagai *platform* terhadap intensitas warna yang dihasilkan oleh PILATOR?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui desain PILATOR untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Salmonella* pada bahan pangan
2. Mengetahui pengaruh jenis kertas sebagai *platform* terhadap intensitas warna yang dihasilkan oleh PILATOR

1.4 Luaran yang Diharapkan

Berdasarkan penelitian ini, luaran yang diharapkan yaitu untuk memberikan pengetahuan tentang pemanfaatan biosensor sebagai metode

untuk mendeteksi keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan sehingga dapat meningkatkan keamanan pangan Indonesia. Hasil dari kegiatan ini diharapkan dapat dipublikasikan secara ilmiah untuk kemudian dapat menambah wawasan bagi akademisi maupun masyarakat. Hak paten juga menjadi salah satu potensi yang dapat dicapai dalam melaksanakan kegiatan ini.

1.5 Kegunaan Penelitian

Terciptanya biosensor ini diharapkan dapat membantu masyarakat, terutama lewat sektor pemerintahan dan badan keamanan pangan guna mengontrol kualitas produk-produk hewani yang beredar di masyarakat. Selain itu, alat ini juga bisa diaplikasikan pada sektor industri pengolahan produk-produk hewani untuk proses penyeleksian bahan baku yang bebas cemaran dari bakteri *Salmonella*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biosensor

Biosensor adalah suatu alat yang mengandung elemen biologis dan terintegrasi dengan *transducer* untuk mendeteksi analit tertentu. Elemen biologis bisa berupa jaringan, mikroorganisme, organel, asam nukleat, enzim, dan antibodi. *Transducer* sendiri adalah komponen untuk merubah sinyal yang didapat dari proses kimia pada analit menjadi sinyal yang dapat dilihat dan dibaca. Berdasarkan *transducer*, jenis sensor yang sering digunakan adalah sensor optik, kalorimetri, dan gravimetri (Rodriguez dan Rivas, 2002). Koyun (2012) menambahkan bahwa biosensor merupakan sebuah alat terintegrasi yang dapat memberikan data spesifik analisis baik secara semi kualitatif maupun secara kuantitatif. Intensitas dari sinyal yang dihasilkan akan sebanding dengan konsentrasi *analyte*.

Biosensor kalorimetri merupakan jenis biosensor yang paling mudah digunakan karena langsung dapat diamati dengan menggunakan mata telanjang. Metode deteksi yang dipilih pada penelitian ini adalah deteksi secara kalorimetri dengan menggunakan pewarna substrat BCIP (*5-Bromo4-Chloro-3-Indolyl Phosphatase*). Substrat BCIP akan dipecah oleh enzim *alkaline phosphatase* menghasilkan perubahan warna menjadi biru (Wohlgemuth, 2008). Antigen spesifik yang terdapat pada *Salmonella* akan berikatan dengan *antibody* spesifik yang telah diletakkan pada platform, *antibody* yang membawa antigen akan bergerak dan merubah warna menjadi jika hasilnya positif, namun jika hasilnya negatif, maka artinya *antibody* tidak bisa mengikat antigen, sehingga tidak ada perubahan warna yang terjadi (Koyun, 2012).

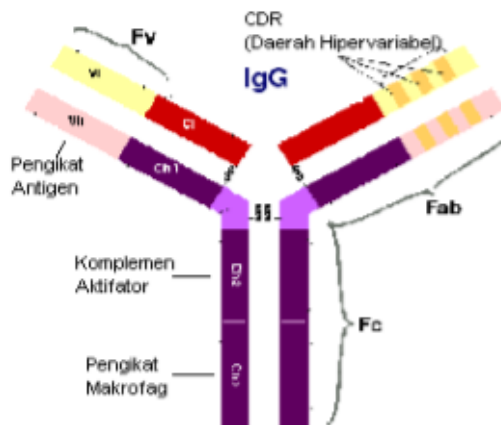
Keuntungan dari biosensor jika dibandingkan dengan elektroda lain yaitu dapat menganalisis banyak zat kimia, mempunyai selektivitas dan sensitivitas yang tinggi karena adanya reaksi enzimatik, mudah diproduksi secara massal, mudah dalam pengoperasiannya, dan sifatnya yang ramah lingkungan (Wendra, 2004).

2.2 Antibodi

Antibodi adalah bagian pertahanan tubuh yang digunakan untuk menghilangkan atau mengurangi zat asing yang masuk ke dalam tubuh.

Mekanisme kerja antibodi dalam tubuh dimulai dengan diikatnya epitope (bagian antigen) oleh antibodi. Ikatan ini akan membentuk kompleks antigen-antibodi yang berukuran besar dan akhirnya mengendap. Kompleks antigen-antibodi ini juga dapat dikenali oleh sel makrofag, yang akan mendegradasi kompleks ini. Antibodi mempunyai dua macam rantai, yakni rantai H (*heavy chain*) yang panjang dan rantai L (*Light chain*) yang lebih pendek. Antibodi akan bereaksi secara spesifik dengan antigen penginduksinya (Moina, 2014). Immunosensor dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi maupun antigen, namun deteksi antibodi lebih banyak digunakan karena penggunaan antibodi sebagai elemen biologis yang spesifik dapat mempengaruhi berkurangnya afinitas karena imobilisasi antibodi pada permukaan *transducer*. Stabilitas antigen dan antibodi setelah berikatan satu sama lain sangat tinggi, sehingga beberapa imunosensor hanya digunakan satu kali (Moina, 2014). Interaksi antigen dengan antibodi bersifat non-covalen dan pada umumnya sangat spesifik. Antibodi hanya diproduksi oleh limfosit B dan disebarkan keseluruh tubuh secara eksositosis dalam bentuk plasma dan cairan sekresi. Mereka membentuk sel B antigen reseptor yang spesifik. Antibodi ditemukan dalam plasma juga berikatan dengan reseptor spesifik untuk daerah konstan (Fc) dari imunoglobulin. Mereka juga ditemukan dalam cairan sekresi seperti mukus, susu dan keringat. perkembangannya antibodi banyak digunakan sebagai alat deteksi di bidang klinis dan biomedisinal. Deteksi ini dapat berupa deteksi protein atau deteksi mikroorganisme (Moina, 2014).

Antibodi dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari poliferasi dan diferensiasi sel B sebagai respon terhadap paparan antigen. Fungsi utama antibodi adalah mengikat antigen dan menghantarkannya ke sistem efektor pemusnahan (Baratawidjaja dkk., 2009). Berikut adalah struktur dari sebuah antibodi seperti ditunjukkan pada **Gambar 2.1**



Gambar 2.1 Struktur Antibodi (Emantoko, 2001).

Antibodi mempunyai struktur yang terdiri atas dua rantai ringan (*light chain*) dan dua rantai berat (*heavy chain*) yang dihubungkan dengan ikatan disulfida membentuk huruf “Y”. rantai berat terdiri atas daerah variabel yang berfungsi sebagai daerah pengikatan antigen dan daerah konstan yang berfungsi untuk berikatan dengan permukaan sel reseptor (Slonane, 2005).

Secara umum tahap pertama deteksi menggunakan antibodi adalah dengan mengikat epitope yang akan di deteksi dengan antibodi. Hal ini mengharuskan antibodi yang digunakan mampu mengenali epitope secara spesifik. Antibodi yang dapat mengenali lebih dari satu macam epitope dari dua antigen yang berbeda dapat menimbulkan kesalahan deteksi positif. Selama ini antibodi yang sering digunakan dalam deteksi adalah poliklonal antibodi. Pada larutan antibodi ini terdapat bermacam-macam molekul antibodi. Satu molekul antibodi, biasanya mengenali satu macam epitope, sehingga larutan poliklonal antibodi mengenali lebih dari satu macam epitope (Emantoko, 2001).

Pada dasarnya satu unit struktur antibodi pada mamalia adalah glikoprotein (berat molekul sekitar 150.000 dalton) yang terdiri dari empat rantai polipeptida. Semua antibodi mempunyai bentuk struktur yang sama yaitu dua rantai pendek (V_L) dan dua rantai panjang (V_H). Bentuk tersebut dihubungkan dengan bentuk kovalen (disulfida) dan erat hubungannya dengan sequens asam amino yang mempunyai struktur sekunder dan tersier.

1.2.1 Reaksi Antigen-Antibodi

Antibodi bekerja dengan mengikat antigen yang kemudian akan

menimbulkan suatu reaksi. Ikatan antigen dengan antibodi sangat spesifik, suatu molekul antigen mempunyai kemampuan untuk bereaksi atau berikatan dengan molekul immunoglobulin tertentu (Haryadi, 2006). Reaksi antara antigen dengan antibodi dapat dilihat pada **Gambar 2.2**. Menurut Burmester (2003), berikut adalah reaksi antigen dengan antibodi:

a. Reaksi presipitasi

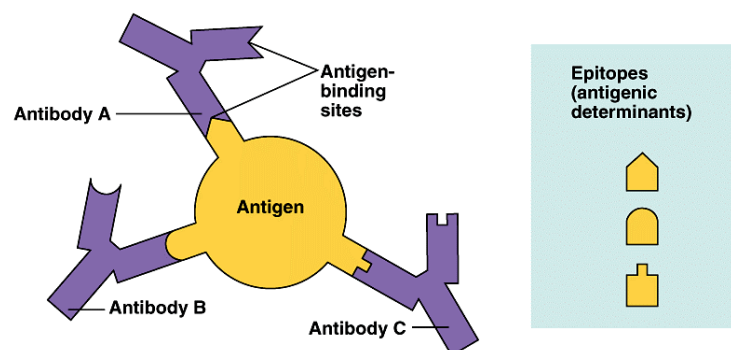
Bila antigen dalam bentuk larutan dicampur dengan antiserum maka akan terjadi presipitasi. Bila disediakan sederetan tabung dengan antiserum yang volumenya sama dan pada tabung ditambahkan antigen dalam jumlah yang makin banyak maka akan ditemukan presipitasi pada tabung yang sudah ditambahkan antigen.

b. Reaksi Silang

Permukaan sel bakteri mengandung beberapa macam antigen dan ada kemungkinan bahwa satu antigen dan ada kemungkinan bahwa satu antigen yang serupa atau hampir serupa ditemukan pada dua jenis bakteri. Serum yang mengandung antibodi terhadap satu bakteri mungkin memberikan reaksi aglutinasi silang.

c. Reaksi Komplemen

Komplemen dapat melekat pada kompleks antigen-antibodi dan bila antigen tidak berupa sel maka pengikatan komplemen tidak dapat dilihat begitu saja, untuk membuktikan adanya pengikatan komplemen diperlukan suatu indikator yang terdiri dari campuran suspensi sel darah merah kambing dan larutan amboseptor atau mengandung antibodi terhadap sel darah merah kambing, jadi suatu indikator berupa *sensitized cells*.



Gambar 2.2 Reaksi antigen-antibodi (Haryadi, 2006).

1.2.2 Antibodi Poliklonal

Antibodi poliklonal diperoleh dari serum darah hewan yang telah diimunisasi dengan antigen yang mempunyai lebih dari satu epitop. Antibodi pertama kali diproduksi oleh hewan apabila diinjeksi antigen adalah IgM atau disebut juga tanggap imun primer. Konsentrasi IgM mencapai puncak pada 10 hari setelah imunisasi dan setelah itu konsentrasi IgM akan menurun. Setelah konsentrasi IgM menurun, IgG akan diproduksi dan mencapai puncak pada 14 hari setelah imunisasi. Apabila injeksi dilakukan lagi maka IgG akan diproduksi lebih dominan sebagai tanggap imun sekunder (Akin, 2006).

Setiap hewan berdarah panas dapat dijadikan sebagai hewan percobaan untuk produksi antibodi poliklonal. Contohnya kelinci, ayam, burung puyuh, tikus, kambing, babi, dan mencit paling banyak digunakan untuk membuat antiserum (Akin, 2006). Dengan demikian, antibodi poliklonal merupakan antibodi multiple clone yang mengandung banyak antibodi dari beberapa epitope yang berbeda namun berasal dari protein yang sama, sehingga mempunyai kemampuan mengikat yang lebih besar (Burry, 2010).

2.3 Jenis Kertas

2.3.1 *Whatman*[®] No.1

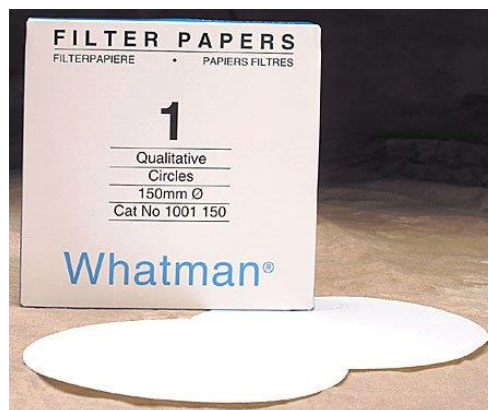
Kertas *whatman*[®] adalah jenis kertas saring kualitatif semi permiabel yang ditujukan supaya kotoran tidak larut tersaring dan memungkinkan bagian dari larutan dapat terpisahkan melalui pori-pori kertas. Kertas *Whatman*[®] no.1 biasanya digunakan di laboratorium analisis untuk menyaring larutan heterogen. Kertas ini terbuat dari turunan selulosa dan memungkinkan penanganan larutan dengan pH antara 0 hingga 12 dan suhu larutan sampai 120°C. ukuran pori-pori dari kertas *Whatman*[®] no. 1 ini adalah 11 µm. Kertas *Whatman* sendiri tersedia dalam berbagai porositas dan kelas bergantung pada aplikasi penggunaannya (Sigma Aldrich, 2017).

Parameter terpenting dalam pemilihan kertas *Whatman* adalah kekuatan basah, porositas, retensi partikel, laju air, kompatibilitas, efisiensi dan kapasitas kertas tersebut. Dalam prinsip penyaringan, terdapat dua mekanisme pada kertas, yaitu volume dan permukaan. Dengan filtrasi volume, partikel terperangkap di sebagian besar kertas *Whatman*. Sedangkan dengan filtrasi permukaan, partikel akan terperangkap pada permukaan kertas. Menurut Martinez *et al.* (2010), menyatakan bahwa kertas *Whatman* no. 1 selain

digunakan dalam hal filtrasi, juga biasa digunakan sebagai *platform* dalam fabrikasi biosensor.

Kertas Whatman ini banyak digunakan karena walaupun dengan potongan yang sangat kecil, kertas ini masih dapat menyerap volume yang signifikan dari cairan. Dimana cairan dapat bergerak dengan cara kapiler tanpa membutuhkan energi dan daya tambahan (Hossain *et al.*, 2009). Selain itu, harga yang relatif murah, mudah didapatkan, mudah dibentuk, ramah lingkungan, tipis, dan ringan, mudah disimpan, warna kertas nya putih sehingga sangat cocok untuk *platform* pendeteksian dengan menggunakan kolorimetri (Martinez *et al.*, 2010).

Dengan banyaknya keunggulan yang diperoleh dari kertas Whatman no. 1 tersebut, banyak penelitian-penelitian sebelumnya yang juga menggunakan kertas Whatman no. 1 sebagai *platform* dalam pembuatan biosensor. Termasuk salah satunya adalah Jokerst *et al.* (2012), yang menggunakan Whatman no. 1 dalam pembuatan *platform* biosensor untuk mendeteksi bakteri patogen. Dengan demikian, kertas saring Whatman no.1 berpotensi untuk dijadikan *platform* pada pembuatan PILATOR. Namun perlu dilakukan pengujian terdahulu dengan membandingkannya menggunakan kertas lain untuk dicari yang lebih efektif sebagai *platform* PILATOR. Kertas Whatman® No. 1 ditunjukkan pada **Gambar 2.3**



Gambar 2.3 Kertas Whatman® No.1 (Sigma Aldrich, 2017).

2.3.2 Kertas Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kertas kromatografi lapis tipis adalah kertas yang biasa digunakan sebagai kertas atau pelat pada metode kromatografi. Kertas yang digunakan adalah kertas kromatografi dengan pelat alumunium. Dimana kertas ini

mempunyai karakteristik lebih tebal dikarenakan adanya alumunium yang melapisi bagian bawah. Kertas KLT ini mempunyai ketebalan 0,15 mm. Untuk kertas KLT yang ber-pelat alumunium masih dapat dipotong menggunakan gunting. Sehingga dalam penggunaanya, masih mudah untuk dipotong sesuai dengan kebutuhan. Resistensi terhadap pelarut dan terhadap asam mineral sangat tinggi. Sedangkan resistensi terhadap konsentrasi amonia sangat rendah (Vertical Chromatography, 2011). Hal yang terpenting dalam pemilihan kertas KLT ini adalah pemilihan plat harus rata (Ningsih, 2009).

Kertas kromatografi lapis tipis plat alumunium terdiri atas bahan padat atau serbuk halus yang dilapiskan pada permukaan yang terbuat dari pelat polimer atau logam. Lapisan melekat permukaan dengan bantuan bahan pengikat, biasanya kalsium sulfat atau amilum (pati). Pada umumnya fase diam yang digunakan adalah silica gel (Baraja, 2008). Fase diam pada KLT dapat berupa fase polar maupun non polar, diantaranya silica gel, alumina, Kiselguhr, magnesium silikat, selulosa, dan resin. Pada selulosa memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai pemisah secara partisi baik dengan bentuk kertas maupun bentuk lempeng. Ukuran partikel yang digunakan kira-kira 50 μm , maka elusinya lebih lambat. Fase diam ini sekarang sudah diganti dengan bubuk selulosa yang dapat dilapiskan pada kaca seperti halnya fase diam yang lain sehingga lebih efisien dan lebih banyak digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa polar atau isomer (Sjahid, 2008). Dengan demikian, kertas kromatografi lapis tipis dapat dijadikan salah satu pembanding untuk menentukan *platform* yang efektif pada PILATOR. Pada **Gambar 2.4** berikut merupakan kenampakan dari kertas Kromatografi Lapis Tipis ber-plat aluminium.



Gambar 2.4 Kertas Kromatografi Lapis Tipis Plat Aluminium (Sorbtech, 2017).

2.3.3 Kertas Nitroselulosa

Kertas nitroselulosa biasa disebut dengan membran nitroselulosa dengan ukuran pori-pori 0,45 μm (8 x 12 cm). Membran nitroselulosa mempunyai daya afinitas pengikatan yang tinggi untuk protein dan sangat cocok untuk aplikasi *Western blotting*, *dot-blot assays*, dan metode pengikatan protein atau asam nukleat lainnya (Thermo fisher, 2011). Salah satu penelitian *western blotting* yang menggunakan membran nitroselulosa adalah penelitian oleh Adhitya, dkk (2013) mengenai profil protein hemaglutinin.

Kertas nitroselulosa terbuat dari pemurnian selulosa yang telah dikonversi menjadi ester dengan 3 kelompok nitrat per molekul glukosanya. Selama persiapan membran, nitroselulosa terlarut dalam campuran larutan organik. Larutan tersebut kemudian dituangkan ke dalam permukaan halus membentuk *film* tipis. Ukuran pori dari membran dikontrol oleh rata-rata evaporasi dari pelarut yang digunakan. Beberapa membran nitroselulosa mengandung selulosa asetat yang mempunyai kemampuan mengikat pula. Maka dari itu, membran nitroselulosa mampu ditembus 100% oleh suatu partikel dan merupakan membran yang paling baik, mempunyai aktivitas biologi dan sensitivitas yang baik (Thermo fisher, 2011). Membran nitroselulosa tampak seperti pada **Gambar 2.5**



Gambar 2.5 Kertas Nitroselulosa (Thermo Fisher, 2011).

2.4 Bakteri *Salmonella* spp.

Salmonella sp. merupakan kingdom *Bacteria*, phylum *Proteobacteria*, class *Gamma Proteobacteria*, ordo *Enterobacteriales*, *Salmonella* sp. family dari *Enterobacteriaceae*, genus *Salmonella* dan species yaitu e.g. *S. enteric* (Todar, 2008). *Salmonella* spp. adalah bakteri bentuk batang, pada pengecatan gram berwarna merah muda (gram negatif). *Salmonella* spp. berukuran 2 μ sampai 4 μ x 0,6 μ , mempunyai flagel (kecuali *S. gallinarum* dan *S. pullorum*), dan tidak

berspora. Habitat *Salmonella spp.* adalah di saluran pencernaan (usus halus) manusia dan hewan. Suhu optimum pertumbuhan *Salmonella spp.* ialah 37°C dan pada pH mencapai 6-8.

Salmonella spp. adalah salah satu serovar atau serotipe dari subspecies *Salmonella enteritica* dan termasuk dalam anggota famili *Enterobacteriaceae* (Office International Des Epizooties (Oie), 2000). *Salmonella spp.* bersifat gram negatif, berbentuk batang dan tidak berspora, motil dengan flagella peritrikus, bersifat fakultatif anaerobik, katalase positif, oksidase negatif, mampu memfermentasi karbohidrat dengan menghasilkan asam dan gas serta dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri ini dapat tumbuh optimum pada suhu 35-37°C dan pH 6,5-7,5 (Supardi dan Sukanto, 1999). Habitat utamanya berada dalam saluran pencernaan hewan ternak dan manusia (Portillo, 2000). *Salmonella spp.* ditemukan pada spesies unggas dan dengan mudah dapat ditularkan ke manusia melalui telur atau daging yang terkontaminasi (Agricultural Research Service (Ars), 2002). Infeksi bakteri ini pada hewan atau manusia dapat mengakibatkan penyakit dengan gangguan pada bagian saluran pencernaan atau gastroenteritis (Serbeniuk, 2002).

Keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan dapat menyebabkan keracunan makanan yang berupa diare pada hewan dan manusia (Chao *et al.*, 2007). Secara umum, ada dua jalan kemungkinan dari cara kontaminasi *Salmonella* pada telur. Telur dapat terkontaminasi lewat masuknya bakteri pada seluruh bagian kerabang dari koloni saluran pencernaan dan feses yang telah terkontaminasi selama atau setelah oviposisi. Kemungkinan yang kedua adalah kontaminasi secara langsung pada kuning telur, putih telur serta membran dan kerabang sebelum oviposisi, sesuai menurut infeksi dari organ reproduksi oleh *Salmonella spp.* (Gantois *et al.*, 2009). *Salmonella* dapat masuk ke dalam telur dengan dua cara yaitu melalui jalur vertikal dan horizontal. Jalur vertikal dimulai saat unggas dewasa kelamin, *Salmonella* berada dalam ovarium, dan saluran reproduksi dari ayam betina. Di antara berbagai jenis *Salmonella*, serotipe *Salmonella spp.* dan *Salmonella enteritidis* dapat mensekresi di dalam isthmus dan masuk ke dalam telur selama proses pembentukan. Jalur horizontal dapat terjadi melalui permukaan terluar dari kerabang telur. Kerabang telur dapat terkontaminasi oleh *Salmonella* melalui feses. Selain itu, *Salmonella* dapat masuk ke dalam telur khususnya saat berada di dalam inkubator dan mesin penetasan (Chao *et al.*, 2007).

Salmonella sp. mempunyai tiga macam antigen utama untuk diagnostik atau mengidentifikasi yaitu : somatik antigen (O), antigen flagel (H) dan antigen Vi (kasul) (Todar, 2008). Antigen O merupakan polisakarida luar dari semua dinding sel digunakan untuk membagi *Salmonella* kepada kelompok A-I. Terdapat dua fasa yang terbentuk dari antigen H yaitu fasa 1 dan fasa 2. Hanya satu dari dua fasa tersebut akan disintesis pada satu waktu tergantung kepada urutan gennya untuk transkripsi mRNA. Antigen Vi (polisakarida kapsul) adalah antifagositik dan berperan dalam menentukan faktor virulensi (Levinson, 2008).

2.5 Berbagai Jenis Kertas yang Telah Digunakan untuk Mendeteksi Bakteri

Perkembangan zaman menuntut manusia untuk menciptakan teknologi-teknologi yang praktis dan mudah untuk digunakan. Sebelum terciptanya suatu teknologi-teknologi baru, sudah ada metode pendeteksian *Salmonella* secara konvensional. Salah satunya adalah dengan penanaman pada media agar, separasi imunomagnetik, metode berbasis imunologi dan metode molekular (Odomeru, 2012), kemudian PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Tarigan, 2011). Selanjutnya berkembang menggunakan ELISA (Odomeru, 2012).

Selain metode konvensional yang membutuhkan banyak peralatan laboratorium, juga saat ini sudah berkembang alat pendeteksi yang cepat seperti *Singlepath® Salmonella GLISA (Gold Labelled ImmunoSorbent Assay)* (Merck, 2006) ataupun *Hygiena™ InSite Salmonella* (Hygiena, 2017). Dalam proses pembuatannya, alat-alat tersebut membutuhkan adanya *platform* sebagai tempat immobilisasi komponen-komponennya. Merujuk pada penelitian sebelumnya mengenai *platform*, telah banyak para ilmuwan yang telah mencari dan meneliti kualitas-kualitas dari berbagai jenis kertas untuk mendeteksi mikroba. Salah satunya yaitu Mustafa *et al.* (2017) yang mendeteksi adanya *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium* menggunakan *Thin Gold Layer*. Selain itu, Costa *et al.* (2014) mendeteksi adanya *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan kertas nitroselulosa dan Ali *et al.* (2017) meneliti tentang adanya *Escherichia coli* menggunakan kertas whatman. Hasil dari masing-masing penelitian tersebut tentunya berbeda-beda tergantung pada jenis bahan dan perlakuan yang digunakan. Namun beberapa diantaranya masih memiliki kekurangan seperti waktu yang relatif lama ataupun deteksi yang kurang akurat. Hasil dari berbagai jenis kertas yang telah digunakan untuk deteksi bakteri dapat dilihat pada **Tabel**

2.1

Tabel 2.1 Berbagai Jenis Kertas yang Telah Digunakan untuk Deteksi Bakteri

Jenis Kertas	Sasaran Deteksi	Sensitivitas	Sumber
<i>Thin Gold Layer</i>	<i>Escherichia coli</i> dan <i>Salmonella typhimurium</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Limit of Detection</i> (LOD) = 10^5 CFU/mL - Waktu deteksi ± 20 menit 	(Mustafa <i>et al.</i> , 2017).
<i>Gold Plated self-adhesive sheet</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Limit of Detection</i> (LOD) = $2,17 \times 10^2$ CFU/ mL - Waktu deteksi 20 detik 	(Alhogail <i>et al.</i> , 2017).
<i>Bioactive paper</i>	<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Limit of Detection</i> (LOD) = 20 CFU/mL - Waktu deteksi 30 menit 	(Hossain <i>et al.</i> , 2012).
Nitroselulosa	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Limit of Detection</i> (LOD) = 10^6 CFU/mL - Waktu deteksi 2,5 jam 	(Costa <i>et al.</i> , 2014).
Whatman	<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Limit of Detection</i> (LOD) = 100 sel/mL - Waktu deteksi 5 menit 	(Ali <i>et al.</i> , 2017).

BAB III

DESAIN TEKNOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Program ini telah dilaksanakan selama 5 bulan yang dimulai pada bulan Februari hingga Juli 2017 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.

3.2 Alat dan Bahan

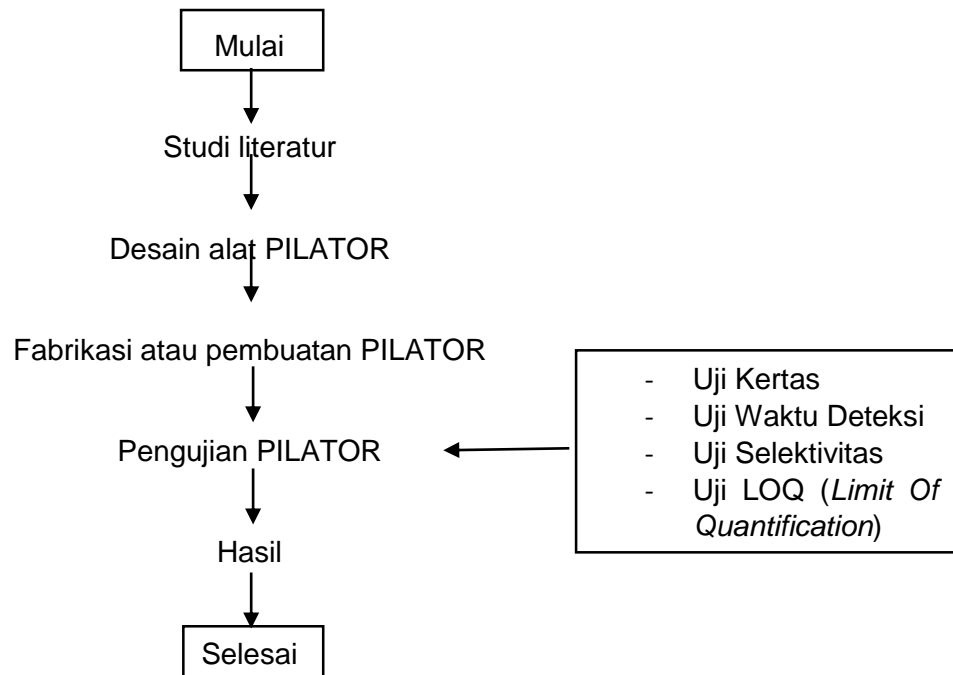
3.2.1 Alat

Alat yang dibutuhkan dalam pembuatan PILATOR diantaranya, autoklaf (GEA), Inkubator (Yamato), freezer -26°C (AB-106R), refrigerator (Labex 125), mikropipet dan mikrotip (Socorex), 15ontro (Biologix), kompor listrik (Maspion), spektrofotometer UV-VIS (Genesis), kerangka alat (Laniras), botol semprot, glassware (Iwaki Pyrex), dan scanner (Canon LIED 220®).

3.2.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan antara lain adalah Kultur *Salmonella spp.*, *Salmonella spp. Antibody* (BIOSS), *Buffer Saline Phospate* (PBS)(Merck), antibodi sekunder –goat anti rabbit igG-AP labeled (Chemicon), substrat BCIP (Thermo Scientific), Natrium Agar (Merch), BSA, Gluteraldehid, Tween 20, kertas Whatman, kertas Kromatografi Lapis Tipis (KLT), kertas nitroselulosa, akuades (Egra), alkohol 70% (Egra), *Lactose Broth* (Merck), tisu, sarung tangan, plastik sterilisasi, kertas sterilisasi, masker, aluminium foil, kapas, karet gelang, kertas label, dan plastik untuk *hard case*.

3.3 Rancangan Implementasi PILATOR



Gambar 3.1 Diagram Alir Tahapan Kegiatan

3.4 Pendekatan Penelitian

Dalam penelitian tugas akhir ini digunakan metode pendekatan sebagai berikut:

a. Studi Literatur

Tahap penulisan diawali dengan studi pustaka mengenai aplikasi teknologi berbasis *colorimetric biosensor* yang telah ada sebelumnya. Studi literatur ini meliputi bahan baku pembuatan alat, aplikasi penggunaan alat, dan pengujian untuk mengetahui kualitas alat, supaya tercapai target dari alat yang dihasilkan yaitu praktis, cepat, akurat, dan *portable*. Dalam penyusunan tugas akhir ini pengumpulan data dilakukan dengan melakukan studi literatur dan penelusuran informasi digital dengan sasaran antara lain:

- a) Informasi internet
- b) Pustaka-pustaka referensi
- c) Pustaka penunjang

b. Pembuatan *Prototype* PILATOR

Selanjutnya adalah tahap pembuatan PILATOR sebagai aplikasi dari studi literatur yang telah dilakukan. Tujuan dari pembuatan *prototype* PILATOR ini yaitu agar mudah digunakan dan diaplikasikan dalam masyarakat, mempunyai waktu deteksi yang cepat, praktis dan akurat serta merupakan teknologi yang *portable*. Maka dari itu, penentuan komposisi dan formulasi bahan baku yang digunakan sangat berpengaruh untuk mencapai parameter tersebut. Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan PILATOR antara lain kertas sebagai *platform*, antibodi, enzim *alkaline phosphatase*, dan substrat BCIP.

Antibodi merupakan suatu molekul imunoglobulin yaitu protein peptide yang dihasilkan oleh sel plasma. Antibodi akan bereaksi secara spesifik dengan antigen penginduksinya karena adanya *antigen-binding fragmen* (Fab) (Ollesgun, 2013). Antibodi yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibodi *Salmonella spp.*. Sedangkan enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim *alkaline phosphatase*. Enzim ini dapat dihasilkan di hati (*isoenzyme* ALP-1) dan tulang (*isoenzyme* ALP-2) serta ada yang diproduksi oleh sel-sel yang melapisi usus (*isoenzyme* ALP-3), plasenta dan ginjal (dalam tubulus proksimal) Enzim *alkaline phosphatase* akan memecah substrat NBT BCIP (*Nitroblue Tetrazolium 5-Bromo4-Chloro-3-Indolyl Phospatase* sehingga akan menghasilkan perubahan warna menjadi biru (Wohlgemuth, 2008).

Pada tahap pembuatan *prototype* PILATOR ini dilakukan pengujian pendahuluan untuk mengetahui formulasi optimal dalam pembuatan biosensor yang meliputi beberapa parameter diantaranya jenis kertas yang digunakan, waktu deteksi yang dibutuhkan, konsentrasi antibodi primer dan sekunder, dan uji immobilisasi enzim. Hasil pengujian yang terbaik akan digunakan dalam pembuatan PILATOR.

c. Pengujian *Prototype* PILATOR

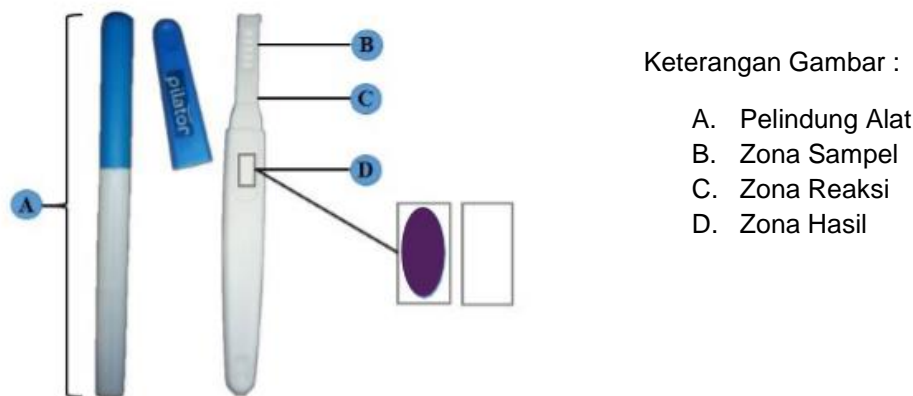
Setelah *prototype* PILATOR berhasil dibuat, tahap selanjutnya yaitu tahap pengujian. Tahap pengujian ini dilakukan untuk menguji kualitas PILATOR sebagai teknologi terbaru supaya layak dan dapat dengan mudah diaplikasikan pada masyarakat maupun badan-badan yang membutuhkan. Tujuan dari pengujian *prototype* PILATOR ini adalah PILATOR mampu mendeteksi adanya bakteri *Salmonella* pada bahan pangan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, parameter untuk mengukur kualitas biosensor yaitu

dengan melakukan pengujian selektivitas, sensitivitas, waktu deteksi, dan batas deteksi (Gani dkk, 2014). Maka dari itu, PILATOR akan diuji kualitasnya berdasarkan parameter tersebut.

3.5 Metode Perancangan *Prototype* PILATOR

3.5.1 Tahap Perancangan *Prototype*

Penelitian ini menggunakan alat PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*) untuk aplikasi pendeteksi *Salmonella*. PILATOR merupakan alat yang mengkombinasikan enzim, kolorimetrik dalam *platform* kertas, sebagai kontrol 18 *Salmonella* pada bahan pangan. Adapun kenampakan teknologi PILATOR dapat dilihat pada **Gambar 3.2**



Gambar 3.2 Bagian-Bagian Alat PILATOR

PILATOR dibuat dengan bahan dasar kertas saring Whatman® no. 1 dengan dimensi alat berukuran 14 x 1,4 x 0,8 cm. Bagian pertama dari alat ini adalah bagian pelindung yang berfungsi untuk melindungi zona reaksi dan zona hasil agar tidak mengalami kerusakan. Bagian kedua adalah zona sampel yang merupakan tempat untuk meneteskan sampel yang akan dianalisis, bagian ketiga yakni zona reaksi merupakan tempat terjadinya reaksi antara antibodi primer yang sudah di tagenzim dengan anti gen *Salmonella* pada sampel, dan yang terakhir adalah zona hasil dimana akan terjadi *sandwich assay* antara antibodi ber-tagenzim yang telah mengikat anti gen *Salmonella* dengan antibodi sekunder yang telah diimobilisasi. Tag enzim pada antibodi primer akan bereaksi dengan zat pewarna yang telah ditaruh pada bagian zona hasil tersebut membentuk warna biru yang memandakan hasil uji positif (+).

3.5.2 Tahapan Pelaksanaan Penelitian

3.5.2.1 Tahapan Preparasi (Modifikasi Cao, 2015)

Tahapan preparasi dilakukan dengan menyiapkan berbagai bahan yang diperlukan untuk kepentingan pengujian diantaranya melakukan proses sterilisasi pada kertas uji yang akan digunakan yaitu kertas saring whatman® no.1, kertas nitroselulosa dan kertas kromatografi (110°C, 60 menit), melakukan pembuatan reagen PBST 1% (15µL Tween 20 dalam 1485µL *Buffer Phosphate Saline*/BPS), BSA 1% (1 mg BSA in 100µL PBST), glutaraldehyd 3% dan 5% (6µ dalam 194µL PBST, dan 10µL dalam 190µL PBST), kitosan 3% dan 5% (6mg dan 10 mg dalam 200µL PBST) , natrium alginat 3% dan 5% (6mg dan 10 mg dalam 200µL PBST), antibodi primer 0,5; 1; 1,5; 2 µg/ml dan antibodi sekunder 0,5; 1; 1,5; 2 µg/ml.

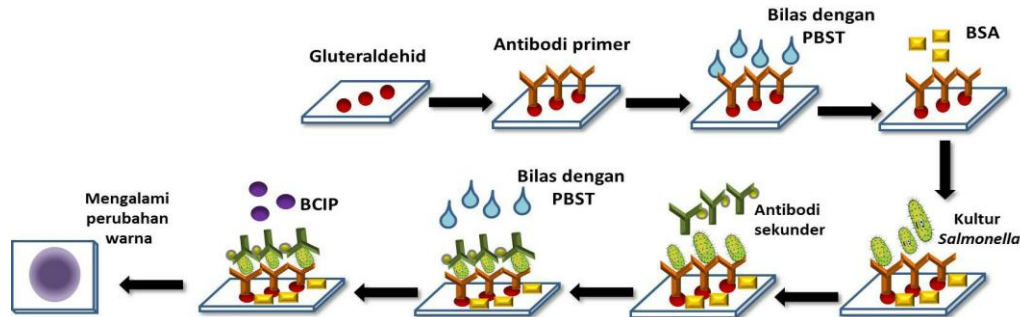
3.5.2.2 Tahapan Pengujian Pendahuluan (Modifikasi Thermo Scientific, 2010)

Pengujian dilakukan untuk mengetahui konsentrasi antibodi primer dan sekunder yang menimbulkan warna paling optimal. Pengujian dilakukan dengan menggunakan kertas yang paling optimal dalam menghasilkan warna berdasarkan hasil pengujian dan hasil warna yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi akan di *scan* dan dibaca menggunakan *software Adobe Photoshop CS6* untuk mencari konsentrasi yang menghasilkan warna paling optimal.

3.5.2.3 Tahapan Fabrikasi Biosensor (Modifikasi Zourob, 2008)

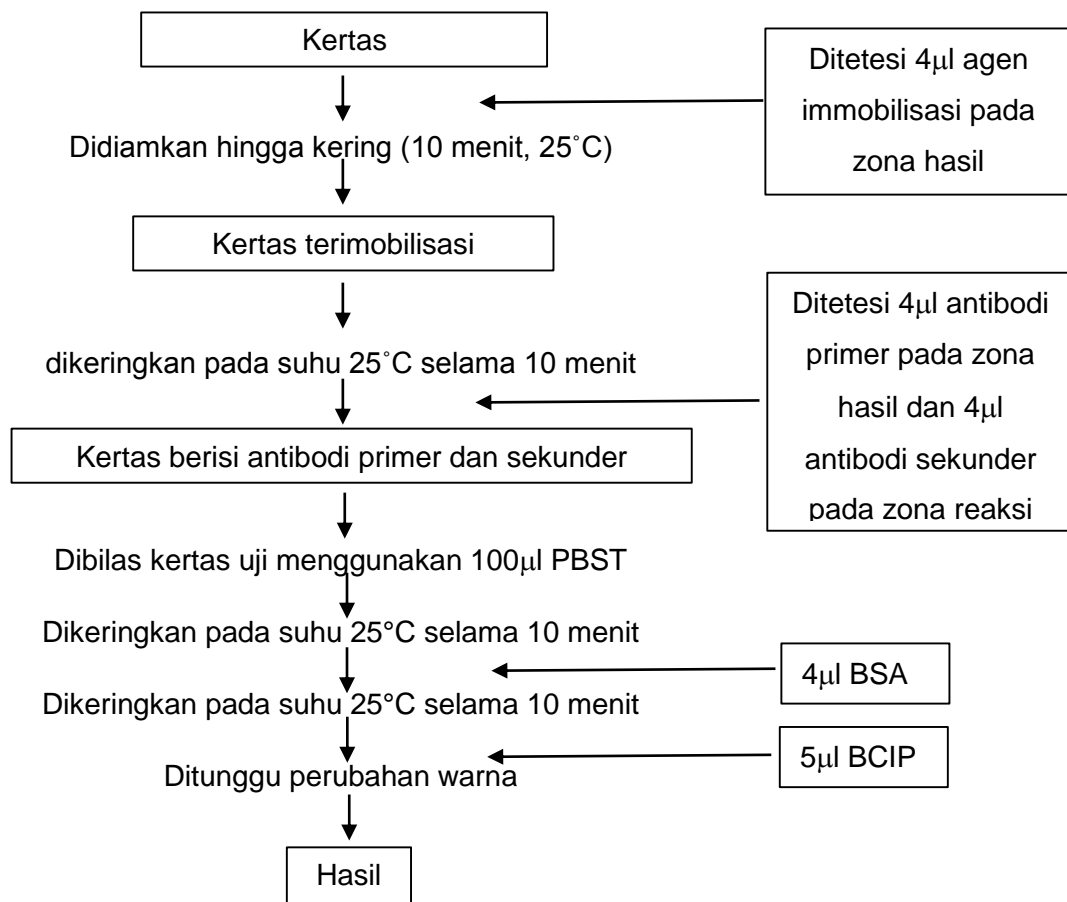
Tahapan fabrikasi PILATOR dilakukan menggunakan kertas Whatman #1 (5 cm x 1 cm), nitroselulosa, dan kromatografi. Kemudian dilakukan sterilisasi (110°C , 60 menit). Pembuatan *reagen* dimodifikasi dengan melakukan pengenceran 15 µl tween 20 dalam PBS sebanyak 1485 µl untuk memperoleh 1500 µl PBST 1%. Selanjutnya 1 mg BSA diencerkan dalam 100 µl PBST untuk memperoleh 100 µl BSA 0,1%, dan terakhir adalah mengencerkan 10 µl glutaraldehyd dalam 190 µl PBST untuk mendapatkan larutan 200 µl glutaraldehyd 5% (Modifikasi Cao, 2015). Pembuatan antibodi primer yaitu 20 µl *Salmonella spp. Antibody* 1 mg/ml diencerkan dengan 180 µl PBS. Sehingga diperoleh 200µl *Salmonella spp. Antibody* 0,1 ug/ul. Pembuatan antibodi sekunder yaitu *goat anti rabbit ig G-AP labeled* 2 µl diencerkan dengan 198 µl PBS. Sehingga diperoleh 200µl *goat anti rabbit igG-AP labeled* 0,01 mg/ml. Kemudian dicampurkan 20 µl

antibodi primer dan 20 μl *goat anti rabbit igG-AP labeled*. Lalu, divortex (1 menit) dan diinkubasi (37°C , 1-2 jam) (Modifikasi Zourob). Fabrikasi biosensor dapat dilihat pada **Gambar 3.3** berikut:



Gambar 3.3 Fabrikasi biosensor

Secara garis besar, pembuatan PILATOR dapat dilihat dari bagan berikut yang tertera pada **Gambar 3.4**



Gambar 3.4 Diagram Alir Fabrikasi Biosensor

Pada **Gambar 3.4** dijelaskan bahwa untuk memulai pengujian harus menyiapkan terlebih dahulu tiga kertas yang akan digunakan yaitu kertas whatman no.1, kromatografi lapis tipis, dan nitroselulosa, lalu dipotong kecil-kecil membentuk persegi. Selanjutnya ditetaskan glutraldehid 4 µl ke masing-masing kertas dan ditunggu 10 menit hingga kering. Kemudian antibodi primer ditetaskan sebanyak 4 µl dan ditunggu 10 menit hingga kering. Selanjutnya ditetaskan PBST sebanyak 100 µl dan ditunggu hingga kering dalam waktu 15 menit. Setelah itu BSA sebanyak 4 µl ditetaskan dan ditunggu hingga kering pula pada waktu 10 menit. Kemudian kultur berupa *Salmonella spp.* Sebanyak 10 µl ditetaskan dan ditunggu 10 menit hingga kering. Selanjutnya ditetaskan antibodi sekunder sebanyak 4 µl dan ditunggu hingga kering selama 10 menit juga. Setelah itu PBST 100 µl ditetaskan dan ditunggu hingga kering. Kemudian ditetaskan BCIP sebagai substrat sebanyak 5 µl. Selanjutnya diamati perubahan warna yang terjadi dengan melihat warna tersebut melalui *scanner*. Dimana perubahan warna yang terbentuk di *scan* setiap 5 menit sekali dari mulai menit ke 5 hingga menit ke 40. Setelah semua kertas di *scan*, kemudian dianalisis intensitas warna tersebut menggunakan *Adobe Photoshop CS6* tahun 2012. Cara tersebut dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Selain itu, pada masing-masing kertas terdapat kertas sebagai kontrol yang tidak menggunakan kultur sama sekali.

3.6 Metode Pengujian *Prototype* PILATOR

Pengujian alat ini bertujuan untuk menguji kualitas PILATOR. Pengujian awal yang harus dilakukan untuk menguji performansi *prototype* PILATOR dalam mendeteksi *Salmonella* adalah sebagai berikut:

3.6.1 Jenis Kertas (Modifikasi Liana, 2012).

Pengujian jenis kertas dilakukan dengan membuat biosensor dengan 3 kertas yang berbeda yaitu kertas whatman #1, kertas kromatografi lapis tipis (KLT), dan kertas nitroselulosa. Masing-masing biosensor akan diuji menggunakan kultur murni *Salmonella*. Hasil pengujian biosensor dari masing-masing kertas akan di *scan* menggunakan *scanner Canon L1ED 220®* dan diukur intensitas warnanya menggunakan histogram warna pada *software Adobe Photoshop CS6* tahun 2012.

3.6.2 Waktu Deteksi (Modifikasi Runyon, 2015).

Pengujian waktu deteksi dilakukan dengan melakukan *scan* kertas uji pada menit pengujian ke 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, dan 40 yang kemudian hasil *scan* dari

scanner Canon LIED 220[®] akan diukur intensitas warnanya menggunakan histogram warna yang terdapat pada *software Adobe Photoshop CS6* tahun 2012.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Biosensor PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*)

Biosensor adalah metode instrumen analitik masa kini yang mampu mengintegrasikan komponen-komponen biologis aktif dengan *transducer* yang mampu mengenali perubahan kimiawi yang terjadi dan dapat mengubahnya menjadi sinyal yang dapat ditampilkan (Somerset, 2011). PILATOR adalah pendeteksi *Salmonella* pada bahan pangan dengan menggunakan prinsip biosensor yang *portable*, cepat, praktis, dan akurat.

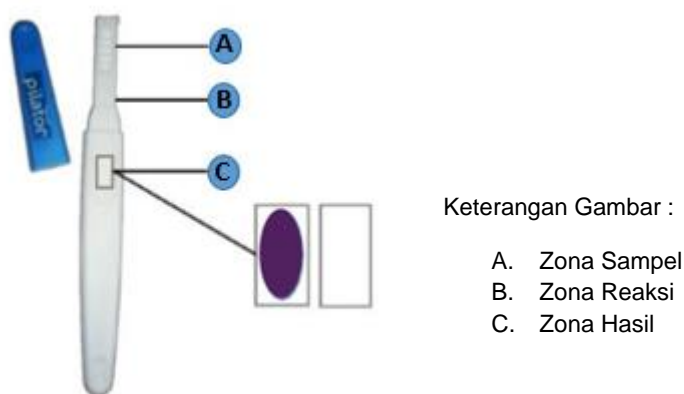
PILATOR menggunakan antibodi *Salmonella spp.* Sebagai komponen biologis aktif, *Alkaline phosphatase* sebagai enzim aktif, dan komponen-komponen lain seperti glutraldehid, PBS, tween 20, BSA, dan BCIP sebagai substrat yang akan merubah warna apabila terjadi reaksi ikatan antigen-antibodi dengan terikatnya pula enzim pada antibodi primer. Perubahan warna tersebut akan ditandai dengan terbentuknya warna biru keunguan. *Tag* enzim pada *antibody* primer akan bereaksi dengan zat pewarna BCIP membentuk warna biru keunguan yang menandakan bahwa hasil uji tersebut adalah positif (+) (Koyun, 2012).

PILATOR terdiri dari dua bagian utama yaitu (1) biosensor, yang berupa kertas whatmabb no. 1 yang telah diberi komponen-komponen biologis aktif, dan (2) pelindung biosensor sebagai wadah untuk produk biosensor. Desain dan bagian-bagian *prototype* PILATOR dapat dilihat pada **Gambar 4.1**



Gambar 4.1 Desain PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*) dan Kemasan

PILATOR dibuat dengan bahan dasar kertas saring whatman® no. 1 dengan dimensi alat berukuran 14 x 1,4 x 0,8 cm. PILATOR mempunyai kemasan primer dan kemasan sekunder. Dimana kemasan primer merupakan wadah atau tempat untuk kertas whatman yang sudah ditetaskan bahan-bahan. Adanya kemasan primer tersebut untuk memudahkan pengguna dalam memegang PILATOR. Dan untuk melindungi kertas dari kotoran ataupun sesuatu yang dapat mempengaruhi kinerja alat tersebut. Area pada kertas whatman tersebut dibagi menjadi 3 bagian yaitu zona sampel, zona reaksi, dan zona hasil. Dimana pada zona reaksi berisi antibodi primer. Kemudian pada zona reaksi adalah tempat dimana akan terjadi reaksi antibodi sekunder dengan antigen yang akan ditetaskan. Selanjutnya pada zona hasil berisi glutaraldehid sebagai agen immobilisasi enzim, BSA, antibodi primer, dan BCIP sebagai substrat perubah warna yang akan berikatan dengan enzim untuk menganalisis sampel. Pada bagian zona hasil inilah sinyal hasil reaksi akan ditampilkan dengan ada atau tidaknya perubahan warna yang dapat dilihat jelas dengan kasat mata. Desain bagian kertas Whatman untuk PILATOR dapat dilihat pada **Gambar 4.2**

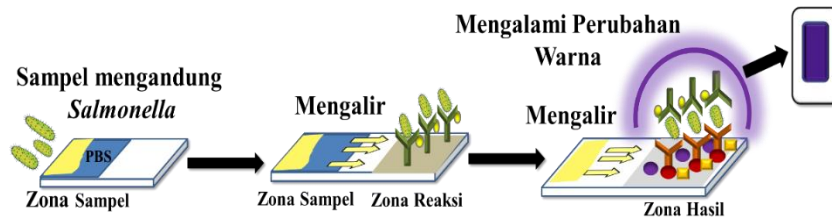


Gambar 4.2 Desain *Prototype* PILATOR

4.2 Prinsip Kerja PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*)

Prinsip kerja PILATOR yaitu sampel yang mengandung *Salmonella* akan mengalir ke zona reaksi. Dimana pada zona reaksi terjadi reaksi antara *antibody* sekunder yang sudah di *tag* enzim dengan antigen *Salmonella* pada sampel. Kemudian akan mengalir ke zona hasil dimana akan terjadi *sandwich assay* antara *antibody* ber-*tag* enzim yang telah mengikat antigen *Salmonella* dengan *antibody* primer yang telah diimmobilisasi. *Tag* enzim pada *antibody* primer akan bereaksi dengan zat pewarna yang telah diletakkan pada bagian zona hasil tersebut

membentuk warna biru keunguan yang menandakan hasil uji positif (+) (Koyun, 2012). Prinsip kerja PILATOR dapat dilihat pada **Gambar 3.4**



Gambar 4.3 Prinsip Kerja Alat

4.3 Hasil Pengujian *Prototype* PILATOR

PILATOR yang telah dibuat kemudian diuji lanjut kemampuannya dalam mendeteksi keberadaan *Salmonella*. Pengujian yang dilakukan yaitu uji *platform* dengan memilih kertas sebagai *platform* nya untuk menentukan kualitas yang paling baik dari ketiga jenis kertas tersebut.

4.3.1 Pengujian Sensitivitas dari Berbagai Jenis Kertas

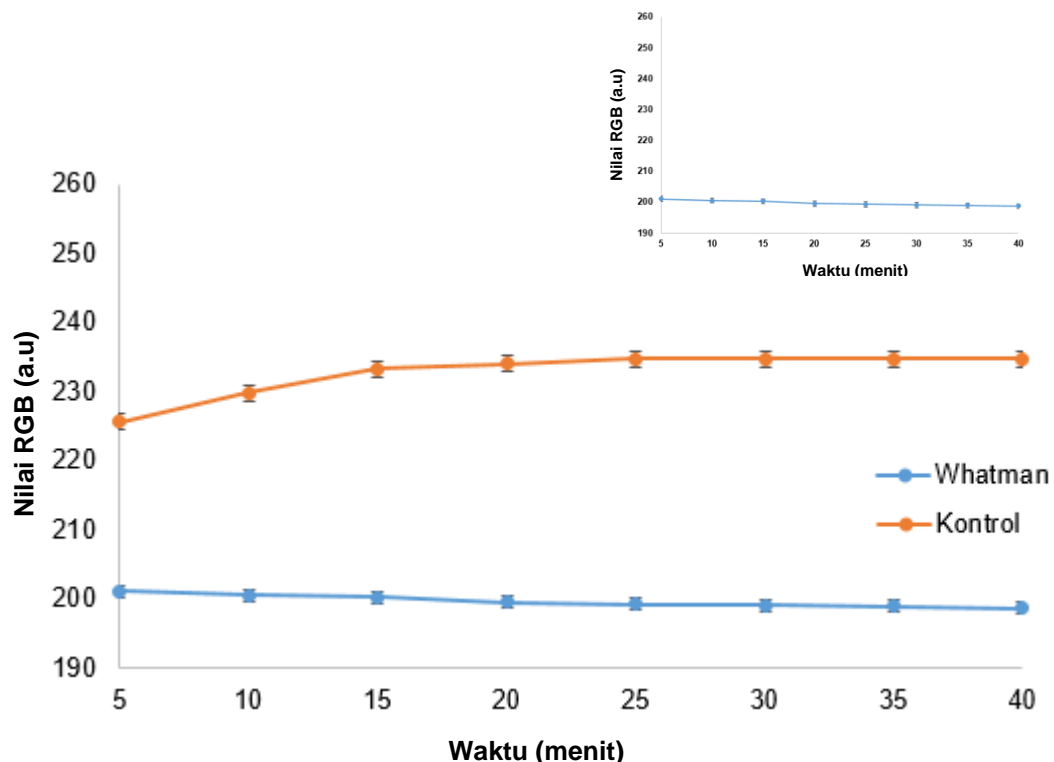
Uji sensitivitas ini dilakukan dengan tujuan mengetahui seberapa sensitif kertas dalam menjadi *platform*. Dimana *platform* sendiri dibutuhkan sebagai tempat antibodi dalam menangkap antigen yang masuk sehingga akan terlihat hasil positif atau negatif. Dengan kata lain, uji sensitivitas ini didasarkan pada lama waktu yang diperlukan PILATOR untuk berubah warna dari putih menjadi biru keunguan setelah ditetesi larutan BCIP. Uji ini perlu dilakukan karena akan dijadikan acuan untuk pengujian-pengujian selanjutnya yang berhubungan dengan kualitas dari teknologi PILATOR ini. Kecepatan waktu pendeteksian dibutuhkan untuk mengetahui seberapa cepat PILATOR ini mampu mendeteksi *Salmonella*. Semakin cepat maka akan semakin bagus kualitasnya, dengan catatan tidak menurunkan nilai sensitivitasnya. Selain itu, uji waktu deteksi ini juga digunakan untuk mengetahui waktu optimum yang dibutuhkan PILATOR untuk berubah warna. Hingga menit beberapa PILATOR ini mampu mendeteksi secara konstan. Dengan kata lain, perubahan warna yang dihasilkan sudah tidak berubah secara drastis. Sehingga apabila ingin mengetahui intensitas warna secara kuantitatif dapat dilihat dari waktu optimum ini. Deteksi waktu yang digunakan dalam penelitian PILATOR ini mengacu pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Runyon (2015) tentang uji waktu pendeteksian biosensor.

PILATOR mengenali antigen (*Salmonella*) dengan ditandai adanya perubahan warna dari putih menjadi biru keunguan. Sehingga apabila tidak berubah warna, artinya tidak ada *Salmonella* yang dikenali oleh antibodi. Hal ini tentunya menjadi tantangan tersendiri pada pembuatan PILATOR, dimana akan sulit menentukan waktu perubahan warna nya apabila pliator tersebut tidak dapat merubah warna dikarenakan ada penghalang atau residu yang akan membuat antibodi tidak dapat mengenali antigen.

Adapun hasil sensitivitas deteksi yang menggunakan tiga kertas yaitu sebagai berikut:

a. Whatman® no. 1

Pengujian sensitivitas warna dari kertas Whatman ber-*Salmonella* yang dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang tidak ditambahkan *Salmonella* ditunjukkan pada **Gambar 4.5**



















Gambar 4.4 Grafik Pengujian Sensitivitas Warna Kertas Whatman pada Konsentrasi *Salmonella* 10^8 CFU mL^{-1} terhadap Waktu

Pada **Gambar 4.4** ditunjukkan bahwa grafik selisih nilai intensitas warna yang dihasilkan dari masing-masing kertas whatman yang diberi perlakuan *Salmonella* dan kontrol terlihat jelas perbedaannya. Dimana kontrol mempunyai

grafik nilai yang sangat tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai yang dihasilkan, semakin pudar warna yang terbentuk. Sehingga dengan tidak adanya antigen *Salmonella* (kontrol), maka warna biru tidak akan bisa terbentuk pada *platform* kertas. Sedangkan pengujian dengan kertas whatman yang menggunakan perlakuan *Salmonella*, nilai intensitas warna nya mengalami penurunan dari menit ke-5 hingga menit ke-40. Perubahan intensitas warna ini berkorelasi dengan rerata nilai *mean*. Dimana semakin pekat intensitas warna biru maka nilai *mean*-nya semakin rendah (Ghozali, 2014). Nilai *mean* pada menit ke-5 sebesar 201,06 kemudian menurun pada menit ke-10 menjadi 200,47. Selanjutnya pada menit ke-15 nilai *mean* nya turun lagi menjadi 200,28, pada menit 20 turun lagi menjadi 199,50. Kemudian nilai *mean* semakin menurun pada menit 25 menjadi 199,27 hingga pada menit 30 *mean* masih turun sedikit menjadi 199,03. Kemudian penurunan yang tidak begitu signifikan terjadi pada menit ke-35 dan 40 secara berturut-turut yaitu 198,98 dan 198,70. Selain itu, dari grafik tersebut dapat dilihat pula waktu optimum yang dibutuhkan supaya warna menjadi konstan atau tidak mengalami perubahan yang signifikan lagi terjadi pada menit ke-25. Dimana setelah menit ke-25, warna biru yang dihasilkan sudah tidak mengalami banyak perubahan lagi. Menurut penelitian sebelumnya, menyatakan bahwa waktu yang dibutuhkan oleh perubahan warna menjadi konstan yaitu dapat dimulai dari menit ke-20. Hal tersebut selain dipengaruhi oleh kertas yang digunakan, juga dapat dipengaruhi oleh bahan-bahan lain yang digunakan untuk immobilisasi (Merck, 2006). Sehingga untuk waktu konstan dari masing-masing penelitian dapat berbeda-beda tergantung dari bahan-bahan yang digunakan, namun sejauh ini, minimal waktu yang dibutuhkan untuk menjadi konstan adalah 20 menit.

Adapun perubahan warna yang terjadi setiap 5 menit sekali pada kertas whatman yang ber *Salmonella* dan kertas whatman yang tidak ber *Salmonella* ditunjukkan pada **Tabel 4.1**. sedangkan untuk mengetahui intensitas warna yang dihasilkan secara kuantitatif ditunjukkan pada **Lampiran 1 (1.4)**.

Tabel 4.1 Hasil Uji Kolorimetri Sensitivitas Warna dengan Kertas whatman® no. 1

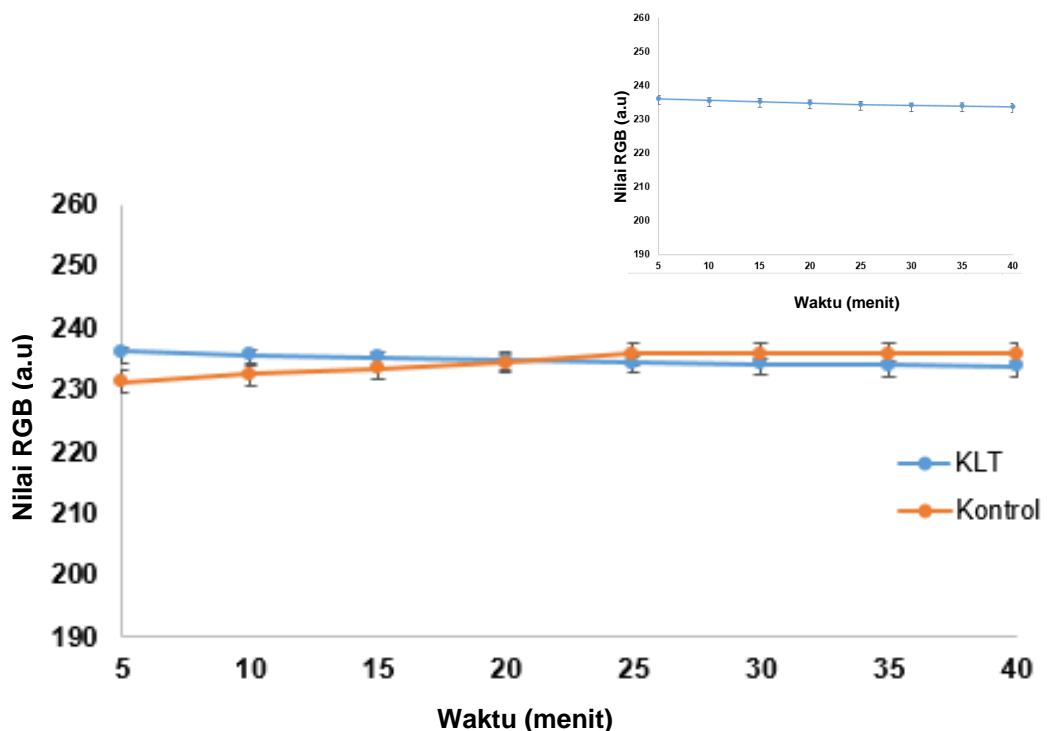
Menit ke-	Hasil Kolorimetri Whatman	
	<i>Salmonella</i>	Kontrol
5		
10		
15		
20		
25		
30		
35		
40		

Pada **Tabel 4.1** dapat dilihat bahwa seiring berjalannya waktu, warna yang dihasilkan dari pendeteksian menggunakan kertas whatman® no. 1 yang ber *Salmonella* menunjukkan perubahan setiap 5 menit nya. Warna putih yang masih dominan pada menit ke-5 sudah mulai menunjukkan perubahan menjadi sedikit kebiru-biruan pada menit ke-10. Selanjutnya warna biru mulai tersebar merata pada menit ke-15. Dan pada menit ke 20 dan 25 sudah sangat jelas kertas tersebut berubah menjadi biru keunguan. Hingga pada menit ke 30, 35, dan 40, perubahan warna yang dihasilkan sudah konstan, atau tidak menunjukkan perubahan warna yang lebih pekat lagi. Sedangkan untuk kertas whatman® no. 1 yang tidak ber *Salmonella*, semakin bertambah waktunya semakin berkurang warna gelap yang dihasilkan atau semakin terang warna pada kertas. Hal tersebut dimulai pada menit ke-5 sampai menit ke-40, tidak menunjukkan adanya perubahan menjadi warna biru.

Perubahan intensitas warna ini berkorelasi dengan rerata nilai *mean*. Dimana semakin pekat intensitas warna biru maka nilai *mean*-nya semakin rendah (Ghozali, 2014). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa intensitas warna biru pada kertas whatman dengan perlakuan *Salmonella* semakin meningkat secara bertahap setiap 5 menit sekali dengan rata-rata selisih nilai perubahan warna nya yaitu 0,29.

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian sensitivitas warna kertas Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang ber-*Salmonella* dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang tidak ditambahkan *Salmonella* ditunjukkan pada **Gambar 4.5**



Gambar 4.5 Grafik Pengujian Sensitivitas Warna Kertas Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada Konsentrasi *Salmonella* 10^8 CFU mL^{-1} terhadap Waktu












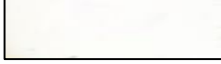

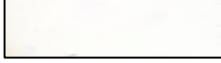


Pada **Gambar 4.5** ditunjukkan bahwa selisih nilai intensitas warna yang dihasilkan dari masing-masing kertas KLT yang diberi perlakuan *Salmonella* dan kontrol terlihat jelas perbedaannya pada awal-awal waktu. Dimana kertas KLT yang diberikan perlakuan kontrol mempunyai grafik yang rendah di awal-awal waktu dan semakin naik grafiknya hingga menit ke-25. Hal tersebut menandakan tidak terjadi pengikatan antigen (*Salmonella*) oleh antibody, sehingga tidak ada warna biru yang terbentuk pada platform kertas. Sedangkan uji deteksi menggunakan kertas KLT yang diberikan *Salmonella* mempunyai grafik nilai yang sangat tinggi pada awal waktu dan semakin turun seiring berjalannya waktu. Seperti terlihat pada menit ke-5, grafik tersebut menunjukkan *mean* yang diperoleh adalah 236,12 kemudian menurun pada menit ke-10 menjadi 235,59. Setelah itu

pada menit ke-15 nilai *mean* nya turun lagi menjadi 235,26. Pada menit ke-20, nilai *mean* menurun juga menjadi 234,83. Selanjutnya pada menit ke-25, nilai *mean* turun menjadi 234,43. Dan pada menit ke-30, *mean* turun lagi namun tidak begitu signifikan yaitu menjadi 235,11. Selanjutnya untuk menit ke-35 dan 40, nilai *mean* masih mengalami penurunan berturut-turut yaitu 233,98 dan 233,73. Untuk mengetahui nilai intensitas warna yang dihasilkan secara kuantitatif ditunjukkan pada **Lampiran 1 (1.5)**.

Menurut Kagan and Michael (2014), kertas kromatografi lapis tipis sangat sesuai untuk pemisahan senyawa organik yang didasarkan pada polaritas, dengan beberapa senyawa mengikat erat ke adsorben. Sedangkan polaritas dari bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini tidak sama dan bukan bahan-bahan organik, sehingga kurang cocok apabila diaplikasikan menggunakan kertas KLT (Fagerlind and Lindholm, 2007). Selain itu, dari grafik tersebut dapat dilihat waktu optimum yang dibutuhkan supaya warna menjadi konstan atau tidak mengalami perubahan yang signifikan lagi terjadi pada menit ke-25. Dimana setelah menit ke-25, warna biru yang dihasilkan sudah tidak mengalami banyak perubahan lagi. Waktu optimum (konstan) tersebut dapat dipengaruhi oleh bahan-bahan yang digunakan. Seperti yang dinyatakan oleh (Merck, 2006) bahwa perubahan warna menjadi konstan minimal terjadi pada menit ke-20.

Adapun perubahan warna yang terjadi setiap 5 menit sekali pada kertas KLT yang ber *Salmonella* dan kertas KLT yang tidak ber *Salmonella* ditunjukkan pada **Tabel 4.2**.

Tabel 4.2 Hasil Uji Kolorimetri Sensitivitas Warna dengan Kertas Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Menit ke-	Hasil Kolorimetri KLT	
	<i>Salmonella</i>	Kontrol
5		
10		
15		
20		
25		
30		
35		
40		

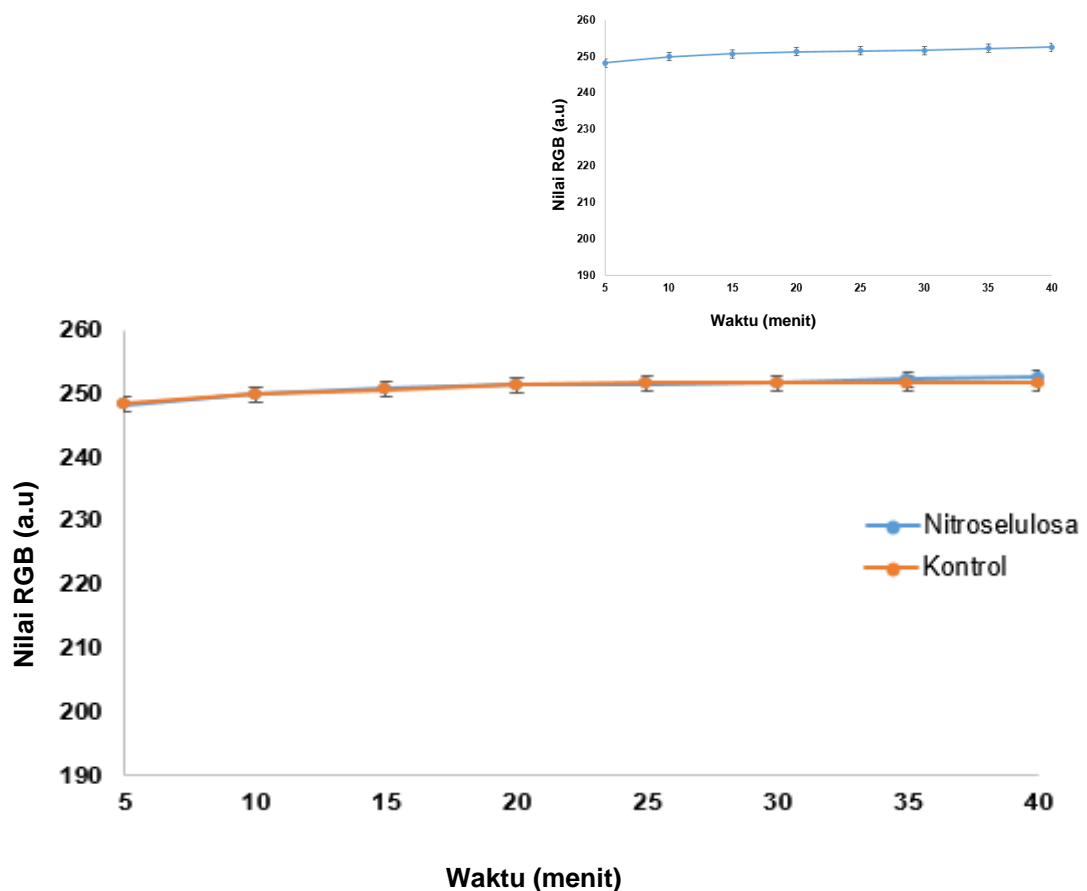
Pada **Tabel 4.2** dapat dilihat bahwa seiring berjalannya waktu, warna kertas kromatografi kolom ini mengalami perubahan menjadi ungu. Pada menit ke-5 warna kertas sudah mulai mengalami perubahan menjadi warna ungu tipis di beberapa bagian. Pada menit ke-10 dan 15 warna ungu sudah mulai terlihat sedikit pekat. Warna ungu menjadi semakin pekat ketika pada menit ke-20. Begitu pula dengan menit ke-25, warna ungu semakin tebal. Hingga mencapai menit 30, 35, dan 40, warna pada kertas masih mengalami perubahan menjadi semakin pekat namun sudah tidak begitu signifikan perubahan warna yang terjadi. Selain itu, warna ungu yang dihasilkan tersebut tidak tersebar merata. Hanya sebagian kecil dari kertas dan hanya membentuk sebuah pola garis.

Dari hasil pengujian kertas KLT tersebut dapat disimpulkan bahwa warna biru pada kertas KLT yang diberikan perlakuan *Salmonella*, dapat dilihat secara kasat mata dan jelas pada menit ke-5. Namun warna yang dihasilkan tidak merata melainkan hanya pada kertas di beberapa bagian saja dan warna nya membentuk sebuah garis. Jadi kurang begitu akurat apabila dilihat secara kualitas saja. Warna yang tidak merata dan hanya membentuk pola garis tersebut disebabkan karena kertas kromatografi lapis tipis terbuat dari bahan plat tipis aluminium di salah satu sisinya yang dilapis dengan adsorben seperti silika gel, aluminium dioksida (alumina), maupun selulosa (Gandjar, 2007). Dengan adanya plat tersebut, akan

menghambat proses penyerapan partikel karena cairan hanya akan tertahan pada salah satu sisi yang terdapat platnya. Maka dari itu, proses yang terjadi pun kurang begitu maksimal walaupun warna yang dihasilkan memang semakin meningkat setiap 5 menit sekali dengan rata-rata selisih nilai perubahan warnanya yaitu 0,29.

c. Nitroselulosa

Pengujian sensitivitas warna kertas Nitroselulosa yang ber-*Salmonella* dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang tidak ditambahkan *Salmonella* ditunjukkan pada **Gambar 4.6**



Gambar 4.6 Grafik Pengujian Sensitivitas Warna Kertas Nitroselulosa pada Konsentrasi *Salmonella* 10^8 CFU mL⁻¹ terhadap Waktu




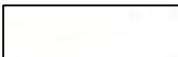
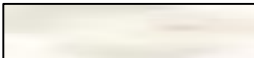
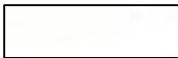


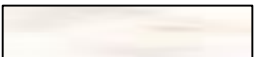
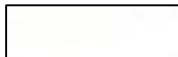



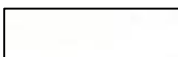

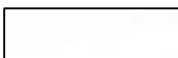
Pada **Gambar 4.6** ditunjukkan bahwa nilai intensitas warna yang dihasilkan dari masing-masing kertas nitroselulosa yang diberi perlakuan *Salmonella* dan kontrol terlihat berbanding lurus. Dimana kertas dengan perlakuan kontrol mempunyai grafik nilai yang sangat tinggi dan semakin tinggi seiring berjalannya waktu. Begitu pula dengan kertas dengan perlakuan diberikan *Salmonella*, pada

menit awal masih rendah namun seiring berjalannya waktu, grafik menunjukkan nilai nya semakin tinggi pula. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai yang dihasilkan, semakin pudar warna yang terbentuk. Sehingga dengan tidak adanya antigen *Salmonella* (kontrol), maka warna biru tidak akan bisa terbentuk pada *platform* kertas. Sedangkan pengujian dengan kertas nitroselulosa yang menggunakan perlakuan *Salmonella*, intensitas warna nya juga terlihat mengalami kenaikan dari menit ke-5 hingga menit ke-40. Intensitas warna yang dihasilkan tersebut berhubungan dengan nilai *mean* yang diperoleh. Karena semakin pekat warna yang dihasilkan, semakin rendah nilai *mean* yang didapatkan. Seperti terlihat pada menit ke-5, *mean* yang diperoleh adalah 248,24 kemudian naik pada menit ke-10 menjadi 249,95. Setelah itu pada menit ke-15 nilai *mean* nya naik lagi menjadi 250,74. Pada menit ke-20, nilai *mean* semakin tinggi menjadi 251,35. Selanjutnya pada menit ke-25, nilai *mean* semakin naik menjadi 251,53. Dan pada menit ke-30, *mean* naik lagi namun tidak begitu signifikan yaitu menjadi 251,62. Selanjutnya untuk menit ke-35, nilai *mean* masih mengalami kenaikan yaitu 252,25 dan pada menit ke-40, nilai *mean* tersebut menjadi 252,54. Untuk mengetahui intensitas warna yang dihasilkan secara kuantitatif ditunjukkan pada **Lampiran 1 (1.6)**.

Pengujian yang dilakukan tersebut tidak dapat diketahui waktu yang dibutuhkan untuk merubah warna karena memang tidak ada perubahan warna biru atau ungu yang terjadi. Dan waktu optimum yang dibutuhkan supaya warna menjadi konstan atau tidak mengalami perubahan yang signifikan pun juga tidak dapat diketahui, karena dari menit awal tidak muncul perubahan warna yang diinginkan. Hal tersebut dapat dipengaruhi karena kertas nitroselulosa merupakan kertas yang di salah satu sisinya terdapat susunan lapisan plastik tipis. Hal tersebut menyebabkan daya serap dari kertas nitroselulosa menjadi lebih lama. Sehingga waktu yang dibutuhkan untuk mengalirkan partikel-partikel juga menjadi lebih lambat (Ali *et al.*, 2017).

Adapun perubahan warna yang terjadi setiap 5 menit sekali pada kertas Nitroselulosa yang ber *Salmonella* dan kertas Nitroselulosa yang tidak ber *Salmonella* ditunjukkan pada **Tabel 4.3**.

Tabel 4.3 Hasil Uji Kolorimetri Sensitivitas Warna dengan Kertas Nitroselulosa

Menit ke-	Hasil Kolorimetri Nitroselulosa	
	<i>Salmonella</i>	Kontrol
5		
10		
15		
20		
25		
30		
35		
40		

Pada **Tabel 4.3** dapat dilihat bahwa seiring berjalannya waktu, warna kertas nitroselulosa ini mengalami pemudaran warna dari gelap menjadi putih terang. Pada menit ke-5, warna kertas terlihat sedikit gelap. Namun warna yang terlihat bukanlah warna ungu melainkan warna hitam. Hal tersebut menandakan bahwa yang terjadi bukanlah antigen yang terikat dengan antibodi. Pada menit ke-10, warna gelap terlihat sedikit memudar. Begitu pula pada menit ke-15, 20, hingga ke-25. Warna gelap tersebut dari waktu ke waktu semakin memudar. Dan sampai menit ke-30, warna gelap sudah semakin hilang. Hingga menit ke-35 dan 40, warna kertas sudah berubah lagi menjadi warna putih terang. Dan warna gelap yang terlihat pada menit awal sudah tidak terlihat lagi.

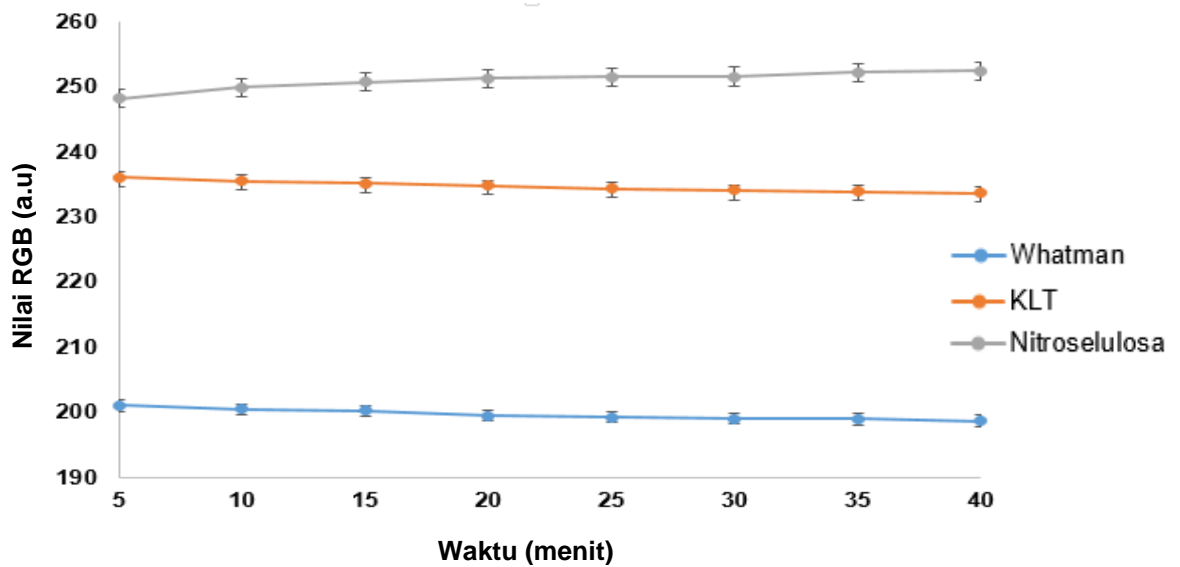
Intensitas warna yang dihasilkan tersebut berhubungan dengan nilai *mean* yang diperoleh. Karena semakin pekat warna yang dihasilkan, semakin rendah nilai *mean* yang didapatkan (Ghozali, 2014). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa intensitas warna hitam tersebut menurun secara bertahap setiap 5 menit sekali dengan rata-rata nilai perubahan warnanya yaitu 0,59. Dan berdasarkan pengujian tersebut, warna hitam bukanlah perubahan warna yang diinginkan, yaitu diikatnya antigen oleh antibodi. Namun warna tersebut kemungkinan adalah warna ketika kertas nitroselulosa masih basah atau berair sehingga yang terlihat adalah

warna hitam. Analisis tersebut diperoleh karena semakin lama warna tersebut semakin memudar. Artinya kertas tersebut semakin lama semakin kering sehingga warna hitam nya juga semakin hilang. Karena pada dasarnya warna hitam tersebut adalah air yang masih sedikit menggenang di kertas nitroselulosa. Hal tersebut terjadi karena nitroselulosa merupakan membran yang tidak mudah menyerap air, dan untuk meningkatkan daya serapnya harus meningkatkan pula kekasaran permukaannya (Costa *et al.*, 2014). Selain itu, memang daya serap dari kertas nitroselulosa cenderung kurang bagus karena adanya lapisan plastik di salah satu sisinya (Ali *et al.*, 2017).

4.3.2 Perbandingan Sensitivitas Masing-masing Jenis Kertas

Platform merupakan tempat yang digunakan untuk meletakkan biosensor tersebut sekaligus sebagai alat pendeteksiannya. *Platform* bisa digunakan dari berbagai macam jenis, terutama jenis kertas namun juga harus disesuaikan dengan komponen yang akan diisikan. Jika tidak sesuai maka kerja kertas tersebut sebagai *platform* kurang maksimal. Maka dari itu, perlu dilakukan perbandingan mengenai berbagai jenis kertas yang akan digunakan sebagai *platform* apabila akan diaplikasikan pada pembuatan PILATOR secara fisik. Pada penelitian ini, kertas yang akan digunakan untuk percobaan sebagai *platform* ada tiga kertas yaitu whatman® no. 1, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan nitroselulosa. Dari ketiga kertas tersebut akan dianalisis hasilnya dan akan dipilih kertas yang cocok dan sesuai untuk *platform* PILATOR. Adapun indikator yang diinginkan dari *platform* tersebut adalah mampu membuat aliran antibodi dan antigen tersebut secara cepat sehingga dihasilkanlah waktu pendeteksian yang singkat. Selain itu, *platform* tersebut juga mampu menghasilkan warna yang terbentuk menjadi lebih bagus dan dapat dilihat secara jelas dengan kasat mata. Penelitian ini merujuk pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Jokerst *et al.*, (2012) mengenai alat pendeteksi bakteri patogen menggunakan kertas berbasis kolorimetri.

Adapun hasil intensitas warna dari ketiga kertas (Whatman, KLT, dan nitroselulosa), ditunjukkan pada **Gambar 4.7**








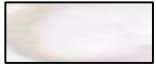


















Gambar 4.7 Grafik Perbandingan Sensitivitas Warna terhadap Waktu dari Masing-Masing Jenis Kertas pada Konsentrasi *Salmonella* 10^8 CFU mL⁻¹

Pada **Gambar 4.7** dapat diketahui bahwa ketiga kertas memberikan intensitas warna yang berbeda. Pada menit ke-5 hingga menit ke-40, kertas Whatman® no. 1 menunjukkan grafik yang paling rendah dibandingkan dengan kertas yang lain. Selanjutnya diikuti dengan kertas KLT yang mempunyai nilai terendah kedua setelah kertas Whatman. Dan yang mempunyai nilai tertinggi adalah kertas nitroselulosa. Semakin rendah nilai *mean* yang dihasilkan, maka menandakan bahwa intensitas warna biru semakin pekat. Sehingga dapat diketahui bahwa *platform* kertas Whatman® no. 1 memberikan intensitas warna biru yang paling pekat dibandingkan dengan kertas jenis lain, yang ditandai dengan hasil *mean* yang paling rendah serta hasil *mean* tersebut konsisten penurunannya dari menit ke-5 hingga menit ke-40.

Pada **Tabel 4.4** berikut disajikan perubahan warna yang dihasilkan setiap 5 menit sekali pada ketiga kertas tersebut.

Tabel 4.4 Hasil Uji Kolorimetri Sensitivitas Warna Secara Kualitatif dari Masing-masing Jenis Kertas

Menit ke-	Hasil Visualisasi Kolorimetri		
	Whatman	KLT	Nitroselulosa
5			
10			
15			
20			
25			
30			
35			
40			

Pada **Tabel 4.4** dapat dilihat bahwa seiring berjalannya waktu, warna yang dihasilkan dari masing-masing kertas tersebut mengalami perubahan yang bertahap mulai dari menit ke-5 hingga menit ke-40. Pada kertas whatman® no. 1, dari menit ke-5 sudah mulai terbentuk warna biru keunguan namun masih sedikit. Seiring berjalannya waktu, warna biru tersebut menyebar ke bagian sampingnya. Hingga menit ke-40, warna kertas sudah menjadi biru keunguan dengan warna yang merata. Kemudian untuk kertas KLT (Kromatografi Lapis Tipis), warna biru keunguan juga sudah terlihat pada menit ke-5. Begitupun hingga menit selanjutnya dan sampai ke menit 40. Namun penyebaran warnanya tidak merata sehingga warna hanya terbentuk di bagian tertentu saja. Selanjutnya untuk kertas nitroselulosa, pada menit ke-5 juga sudah terlihat warna gelap. Namun warna yang terlihat bukan warna biru ataupun ungu, namun warna gelapnya adalah warna hitam. Hal tersebut bisa diasumsikan bahwa kertas tersebut masih basah dan bukan hasil positif dari pendeteksian yang dilakukan. Sehingga dari warna tersebut dapat disimpulkan bahwa kertas yang paling bagus adalah kertas whatman® no. 1. Karena selain warna yang terbentuk bagus, juga persebaran warna biru yang dihasilkan merata.

Selain dilihat secara kualitatif, warna tersebut juga dapat diketahui secara kuantitatif dengan menganalisisnya menggunakan histogram warna yang terdapat pada aplikasi *Adobe Photoshop CS6*. Dari histogram warna tersebut, dapat diketahui nilai angka nya dari warna yang dihasilkan. Nilai tersebut akan berguna untuk mengetahui seberapa banyak *Salmonella* yang dapat dideteksi oleh PILATOR. Adapun hasil intensitas warna secara kuantitatif dapat dilihat pada **Lampiran 1 (1.7)**.

Dari hasil pengujian tersebut, dapat diketahui bahwa setiap jenis kertas memiliki tingkat penyerapan partikel dan persebaran warna yang berbeda. Hal tersebut dapat disebabkan salah satunya yaitu bahan baku pembuatan kertas. Bahan baku pembuatan kertas Whatman no.1 adalah selulosa (Sigma Aldrich, 2017) , bahan baku pembuatan kertas KLT adalah serbuk dimana terdapat bahan pati nya dan masih dilapisi dengan logam aluminium (Baraja, 2008), dan bahan baku pembuatan nitroselulosa adalah selulosa yang sudah dilakukan perlakuan awal (Thermo Fisher, 2011). Dari ketiga bahan tersebut, selulosa merupakan bahan yang paling baik untuk kertas saring. Karena menurut Meryandini dkk (2009), menyatakan bahwa selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan β -1,4 glikosidik yang berbentuk rantai linier. Dimana rantai yang linier tersebut menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut air, kuat dan tahan terhadap peruraian.

Selulosa merupakan bahan utama pembuat kertas Whatman no.1. maka dari itu, kertas tersebut dapat memberikan penyerapan partikel yang bagus, kuat, dan tidak mudah larut air. Dengan demikian, kertas yang dipilih untuk pembuatan *platform* PILATOR adalah kertas whatman no. 1. Pemilihan tersebut didasarkan pada hasil pengujian yang menunjukkan bahwa kertas Whatman no.1 dapat memberikan hasil warna yang terbaik dan sifat serta karakteristik kertas pun sesuai dengan *platform* yang diinginkan dalam pembuatan *platform* PILATOR.

4.4 Rencana Implementasi dan Aplikasi di Masyarakat

4.4.1 Kelebihan dan Kekurangan PILATOR

PILATOR merupakan alat pendeteksi bakteri *Salmonella* berbasis biosensor kolorimetri. PILATOR mempunyai tingkat sensitivitas yang tinggi karena dapat mendeteksi *Salmonella sp.* dan tidak dapat mendeteksi bakteri selain *Salmonella*. Hal tersebut dipengaruhi oleh antibodi yang digunakan yaitu antibodi khusus untuk antigen *Salmonella*. Target dari pembuatan teknologi PILATOR ini

adalah terciptanya alat pendeteksi *Salmonella* yang *portable*, cepat, praktis, akurat, dan murah serta mudah dalam penggunaannya. PILATOR memiliki beberapa kelebihan diantaranya adalah:

- a. Tingkat selektivitas yang tinggi. Hal ini disebabkan karena antibodi yang digunakan merupakan antibodi jenis *Salmonella spp. antibody*. Sehingga antigen yang dapat dikenali dari antibodi tersebut hanyalah *Salmonella*. maka dari itu, jika terdapat bakteri selain *Salmonella* pada bahan pangan tersebut, PILATOR tidak akan mendeteksinya dan tidak akan berubah warna.
- b. *Portable*, karena ukuran PILATOR hanya 14 x 1,4 x 0,8 cm. Ukuran kemasannya pun hanya 17 x 2 x 7 cm, sehingga mudah untuk dibawa kemana-mana.
- c. Cepat, karena PILATOR mampu mendeteksi adanya bakteri *Salmonella* pada sampel dalam waktu hanya 10 menit.
- d. Akurat, dimana alat ini dapat mendeteksi keberadaan *Salmonella* dalam konsentrasi rendah. Dengan kata lain, *Limit of Detection* (LOD) dari PILATOR yaitu 10^2 CFU/ml.
- e. Murah, dimana melalui perhitungan Harga Pokok Produksi (HPP) diperoleh HPP untuk penjualan PILATOR adalah Rp 16.000,00. Dimana konsumen akan mendapatkan 1 alat PILATOR, 2 strip biosensor, dan 5 ml larutan buffer (PBS) untuk melarutkan sampel. Sehingga dapat digunakan untuk 3 kali deteksi.
- f. Mudah diaplikasikan, dimana dalam penggunaannya tidak memerlukan alat-alat laboratorium maupun alat-alat yang lain. Karena segala yang diperlukan sudah disediakan dalam satu kemasan PILATOR.

Disamping kelebihan-kelebihan yang dimiliki oleh PILATOR, alat ini juga mempunyai beberapa kekurangan atau kelemahan. Kelemahan PILATOR tersebut antara lain sebagai berikut:

- a. Deteksi masih kualitatif. Karena hasil yang ditampilkan oleh PILATOR masih sebatas warna yang dapat dilihat dengan mata telanjang. Nilai dari intensitas warna tersebut belum bisa diketahui langsung pada alat tersebut, melainkan harus dimasukkan ke dalam sebuah aplikasi terlebih dahulu. Namun, untuk jangka waktu ke depan PILATOR dapat dikembangkan

menjadi alat pendeteksian kualitatif sekaligus kuantitatif.

- b. Umur simpan PILATOR yang pendek yaitu 2- 4 minggu pada suhu ruang. Namun jika dalam suhu dingin sekitar -20°C, PILATOR mampu bertahan hingga 1 tahun. Hal tersebut dikarenakan bahan-bahan yang menyusun PILATOR rentan rusak apabila terkena suhu tinggi.
- c. Waktu pendeteksian kurang cepat. Dalam skala industri, waktu 10 menit untuk mendeteksi bakteri pada bahan mungkin masih termasuk dalam kategori lama. Walaupun mungkin jika dibandingkan dengan alat pendeteksi lain, PILATOR masih unggul waktu pendeteksiannya. Namun jangka ke depannya akan dikembangkan lagi PILATOR yang mampu mendeteksi bakteri *Salmonella* pada kurun waktu kurang dari 5 menit.

4.4.2 Perbandingan PILATOR dengan Alat Pendeteksi *Salmonella* yang Telah Ada

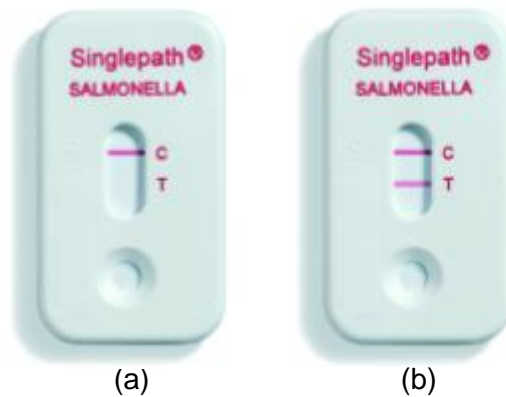
Berkembangnya zaman menjadi lebih modern, semakin berkembang pula segala sesuatu yang mengikutinya. Termasuk salah satunya adalah cara-cara untuk meningkatkan kesehatan pada manusia. Salah satu caranya yaitu dengan mencegah hal-hal yang tidak diinginkan masuk ke dalam tubuh, misalnya bakteri. Dan untuk mempermudah pencegahan tersebut, telah ada para ilmuwan yang berfikir untuk mengembangkan sebuah teknologi dalam mendeteksi suatu bakteri, termasuk di dalamnya adalah bakteri *Salmonella*. Sehingga tidak sedikit pula peneliti yang sudah berhasil membuat teknologi tersebut untuk dikomersialisasikan dan dikembangkan di masyarakat.

Sebelum adanya teknologi modern yang lebih canggih, dahulu pernah dilakukan pendeteksian *Salmonella* dengan cara yang konvensional yaitu dengan pengujian mikrobiologi (Notoadmodjo, 2002). Pengujian tersebut tentunya membutuhkan banyak peralatan laboratorium dan membutuhkan waktu yang lama. Sehingga untuk mendapatkan hasilnya harus menunggu beberapa hari untuk mengetahui ada atau tidaknya *Salmonella* pada suatu sampel. Kemudian berkembang suatu alat yang cukup populer yaitu PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Namun kelemahan dari PCR ini adalah alatnya yang masih sangat mahal dan pengerjaanya yang cukup rumit karena membutuhkan adanya elektroforesis agarose untuk mengeluarkan hasil PCR (Tarigan, 2011). Sehingga PCR dirasa kurang efektif dan kurang efisien dalam mendeteksi keberadaan *Salmonella*. Selanjutnya berkembanglah metode ELISA (*Enzyme-Linked*

Immunosorbent Assay) dimana ELISA ini menerapkan prinsip pengikatan antigen-antibodi. Selain itu juga mengandalkan enzim dan substrat (Odomeru, 2012). Namun ELISA ini merupakan metode yang masih dirasa terlalu lama karena membutuhkan peralatan laboratorium dan membutuhkan waktu pendeteksian yang lama.

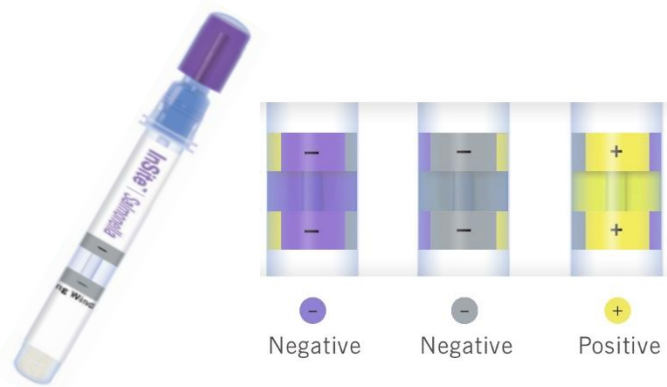
Dengan ditemukannya metode-metode tersebut, para peneliti berhasil menciptakan suatu alat pendeteksi berbasis biosensor yang praktis. Alat ini juga telah dikomersialisasikan di beberapa negara. Alat tersebut adalah *Singlepath[®] Salmonella* GLISA (*Gold Labelled ImmunoSorbent Assay*). Alat ini merupakan salah satu alat pendeteksi *Salmonella* menggunakan pengikatan antigen-antibodi dengan antibodi yang digunakan adalah *gold-labelled antibodies* spesifik *Salmonella*. Alat ini mempunyai 2 zona yaitu zona *test* (T) dan zona kontrol (C). Zona *test* (C) untuk memunculkan hasil apabila positif, dan zona kontrol (C) untuk memunculkan hasil apabila negatif. *Singlepath[®] Salmonella* mampu mendeteksi *Salmonella* dengan konsentrasi minimal 10^6 CFU/ml. Dalam penyimpanannya, alat ini harus disimpan pada suhu 2°C hingga 8°C. Pada proses awal sebelum digunakannya alat ini, sampel yang akan diteliti harus diinkubasi terlebih dahulu selama ± 2 hari (48 jam). Dan saat menggunakan alat ini, ruangan yang digunakan harus diatur pada suhu 18 hingga 26°C. Hasil pendeteksian dari tes ini akan muncul setelah 20 menit. Jika hasil sampel positif mengandung *Salmonella*, maka akan menunjukkan garis merah pada zona *test* (T) dan zona kontrol (C). Namun jika hasil negatif, maka garis merah hanya akan muncul pada zona kontrol (C) saja. Namun hasil tersebut harus cepat dibaca pada kisaran waktu 20 hingga 25 menit pertama. Karena hasil akan mudah hilang ketika sampel pada alat tersebut sudah mengering. Sehingga tidak direkomendasikan untuk membaca hasil tes alat ini setelah 25 menit (Merck, 2006). *Singlepath[®] Salmonella* GLISA (*Gold Labelled ImmunoSorbent Assay*) test ditunjukkan pada

Gambar 4.8



Gambar 4.8 *Singlepath*[®] *Salmonella* GLISA (a) Hasil negatif, (b) Hasil positif (Merck, 2006).

Selain alat *Singlepath*[®] *Salmonella* GLISA, telah berkembang pula saat ini alat pendeteksi *Salmonella* yang lain. Alat ini juga berbasis kolorimetri, namun menggunakan teknik *swab* (oles). Alat tersebut adalah *Hygiena*[™] *InSite Salmonella*. Alat ini merupakan alat yang digunakan untuk mendeteksi *Salmonella* pada bagian permukaan sampel. Komersialisasi alat ini masih di beberapa negara yaitu Australia, Amerika, dan Cina. Dalam alat ini sudah mengandung bahan larutan spesifik yang sudah disesuaikan dengan bakteri *Salmonella* serta adanya komponen *chromogenic* yang spesifik untuk *Salmonella*. Proses pengujiannya hanya dengan mengoleskan alat tersebut ke permukaan sampel yang akan diuji, kemudian diinkubasi hingga muncul hasilnya. Apabila sampel tersebut positif mengandung *Salmonella*, maka warna pada alat akan berubah dari ungu menjadi kuning. Apabila warna tetap ungu atau menjadi abu-abu, maka hasil tersebut dinyatakan negatif. Hasil pengujian akan muncul pada kurun waktu 1 hingga 2 hari. Alat ini mempunyai tingkat sensitivitas yang tinggi yaitu dapat mendeteksi keberadaan *Salmonella* pada konsentrasi 1-10 CFU/ml. Namun *Hygiena*[™] *InSite Salmonella* ini sangat sensitif terhadap suhu. Jadi, penempatan alat ini harus benar-benar diperhatikan. Misalnya seperti ruangan yang digunakan untuk melakukan pengujian (Hygiena, 2017). Alat *Hygiena*[™] *InSite Salmonella* ditunjukkan seperti pada **Gambar 4.9**



Gambar 4.9 *Hygiena™ InSite Salmonella* dan Hasil Uji Alat (Hygiena, 2017).

PILATOR adalah alat pendeteksi *Salmonella* yang didesain untuk memudahkan para penggunanya. Perbandingan PILATOR dengan alat lain dapat dilihat berdasarkan kelebihan dan kekurangan masing-masing yang ditunjukkan pada **Tabel 4.5**

Tabel 4.5 Perbandingan PILATOR dengan Alat Pendeteksi *Salmonella* yang Telah Komersil

Nama Alat	Kelebihan	Kekurangan
PILATOR (<i>Rapid Salmonella Detector</i>)	<ul style="list-style-type: none"> a. Waktu deteksi lebih cepat, yaitu 10 menit b. Selektif terhadap <i>Salmonella</i> c. <i>Portable</i> d. Akurat, batas deteksi 10^2 CFU/ml e. Praktis f. Murah, harga Rp 16.000,- dengan 2 <i>test kit</i> 	<ul style="list-style-type: none"> a. Pengujian masih kualitatif b. Umur simpan hanya 2-4 minggu
<i>Singlepath® Salmonella</i> GLISA	<ul style="list-style-type: none"> a. Akurat, batas deteksi 10^6 CFU/ml b. Umur simpan lama pada suhu 2-8°C c. Selektif terhadap <i>Salmonella</i> 	<ul style="list-style-type: none"> a. Kurang praktis (membutuhkan peralatan tambahan) b. Mahal, harga ±Rp 3.750.000,- untuk 25 <i>test kit</i> c. Memerlukan ruangan khusus untuk penggunaan alat d. Pengujian masih kualitatif e. Hasil cepat hilang setelah menit 25 f. Lama proses pengujiannya yaitu 2 hari
<i>Hygiena™ InSite Salmonella</i>	<ul style="list-style-type: none"> a. Akurat, batas deteksi 1-10 CFU/ml b. Proses penggunaan sederhana (hanya <i>swab</i> ke sampel) 	<ul style="list-style-type: none"> a. Lama proses pengujiannya yaitu 1-2 hari b. Mahal, harga ±Rp 5.850.000,- untuk 50 <i>test kit</i> c. Membutuhkan peralatan tambahan d. Pengujian masih kualitatif e. Tidak dapat disimpan di suhu ruang

4.4.3 Potensi Komersialisasi PILATOR

Seiring perkembangan zaman, berkembang pula pola pikir masyarakat mengenai kesehatan. Terutama dalam pemilihan makanan sehat. Bahan pangan hewani sering dikonsumsi oleh masyarakat karena alasan kandungan proteinnya yang tinggi. Hampir setiap hari, makanan hewani tersebut tidak pernah lepas dari makanan pendamping nasi dan sayur. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya data dari Direktorat Jenderal Peternakan (2017), yang menyatakan bahwa konsumsi bahan pangan hewani mengalami peningkatan dari tahun 2015 ke tahun 2016 termasuk di dalamnya adalah produk daging ayam, daging sapi, telur, maupun susu. Hal tersebut mendorong para peternak untuk memproduksi lebih banyak bahan pangan hewani yang dirasa menguntungkan. Dan pertumbuhan produktivitas bahan pangan hewani salah satunya telur di Indonesia pada tahun 2016 ke tahun 2017 meningkat menjadi 2,79% (Direktorat Jenderal Peternakan, 2017).

Tingginya angka konsumsi tersebut harus diimbangi dengan bahan pangan yang berkualitas. Salah satunya yaitu tidak tercemar bakteri patogen ataupun bakteri yang dapat mempengaruhi kualitas dari bahan tersebut. Karena telah banyak kasus yang ditemukan di Indonesia terkait dengan kurangnya perhatian terhadap keamanan pangan. Dan akibatnya banyak masyarakat di Indonesia yang terkena penyakit akibat dari adanya bakteri patogen pada makanan (Sutejo, 2016). Salah satu bakteri patogen yang dapat mengkontaminasi produk hewani tersebut adalah *Salmonella*. Bakteri tersebut merupakan salah satu bakteri yang sering menginfeksi manusia melalui makanan dan minuman (Brooks, 2005). Menurut Suwandono *et al.* (2005), diperkirakan kasus akibat terkena *Salmonella* terjadi sebanyak 60.000 hingga 1.300.000 kasus dengan sedikitnya 20.000 kematian per tahunnya. Sehingga masih sangat perlu adanya perhatian khususnya dalam mengatasi masalah keamanan pangan di Indonesia.

Berdasarkan masalah-masalah yang dijabarkan, diciptakanlah PILATOR sebagai inovasi alat pendeteksi *Salmonella* yang praktis, *portable*, cepat, dan akurat. PILATOR dibuat untuk membantu mengatasi masalah keamanan pangan dengan cara mendeteksi adanya *Salmonella* di bahan pangan, khususnya bahan pangan hewani. Dengan terdeteksinya *Salmonella*, artinya terdeteksi pula penyebab satu dari masalah keamanan. Sehingga badan yang bertanggung jawab akan sesegera mungkin dapat mengambil tindakan dan langkah untuk mengatasinya. PILATOR juga dapat mendukung gaya hidup yang sehat dan

menjaga bahan pangan agar terbebas dari *Salmonella*, sehingga aman untuk dikonsumsi masyarakat.

Berdasarkan paparan manfaat PILATOR tersebut, maka alat ini berpotensi untuk dikomersialisasikan. Dalam kemasan PILATOR terdapat 1 alat PILATOR, 2 strip biosensor dan 1 botol pelarut PBS. Satu kemasan PILATOR dijual dengan harga Rp 16.000,-. Adapaun rincian perhitungan harga pokok produksi PILATOR dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

PILATOR merupakan alat pendeteksi *Salmonella* berbasis *colorimetric biosensor* yang mudah diaplikasikan, memiliki hasil yang cepat, *portable*, praktis, dan akurat. Desain perangkat ini terdiri dari 3 zona, yaitu zona sampel, zona reaksi, dan zona hasil. Dimensi PILATOR yaitu 14 x 1,4 x 0,8 cm. Pengaplikasian alat ini pada sampel bahan pangan yaitu dengan meneteskan bahan pangan yang sudah dilarutkan dengan PBS ke zona sampel. Kemudian ditunggu dan diamati perubahan warnanya. Adanya perubahan warna menjadi biru keunguan menandakan bahwa sampel tersebut positif mengandung *Salmonella*. tidak adanya perubahan warna menjadi biru keunguan menunjukkan tidak adanya bakteri *Salmonella* pada bahan pangan tersebut.

PILATOR membutuhkan sebuah platform untuk tempat immobilisasi komponen-komponennya. Platform yang digunakan harus yang mempunyai kualitas lebih bagus. Hasil uji platform yang dilakukan didapatkan bahwa kertas yang sesuai untuk platform PILATOR adalah kertas Whatman® no.1. Dimana kertas Whatman dapat memberikan warna yang lebih jelas dibandingkan kertas yang lain dengan ditandainya nilai *mean* yang paling rendah. Selain itu, PILATOR juga mempertimbangkan waktu deteksinya. Semakin cepat waktu deteksi, maka akan semakin bagus untuk aplikasinya. Hasil untuk uji waktu deteksi, didapatkan bahwa PILATOR mampu mendeteksi keberadaan *Salmonella* pada menit ke-10 dengan ditandai adanya warna biru yang jelas dan dapat dilihat dengan kasat mata. Selain itu, warna tersebut akan optimum (konstan) pada menit ke-25.

5.2 Saran

Perlu pengembangan lebih lanjut untuk menunjang performansi PILATOR. Salah satunya yaitu dengan memberikan metode enkapsulasi pada antibodi dan komponen lainnya supaya umur simpan lebih lama dan lebih terjaga kualitasnya. Selain itu, dapat dikembangkan percobaan terhadap bakteri lain dengan menggunakan prinsip yang sama dengan metode yang digunakan oleh PILATOR. Sehingga akan didapatkan fungsi yang lebih kompleks untuk dikomersialkan dan diaplikasikan ke industri-industri pangan terutama di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhitya, H. 2013. **Profil Protein Hemagglutinin (Ha) Berdasarkan Berat Molekul Virus Avian Influenza Isolat Lokal**. Veterinaria Medika Vol 6, No.2
- Agricultural Research Service. 2002. **A Focus on *Salmonella***. <http://www.nal.usda.gov/fsirio/research/fsleets/fsheet10.htm>. diakses pada tanggal 24 Oktober 2017 pukul 21.34
- Alhogail, S., Ghadeer, A. R. Y., Suaifan, and M. Zourob. 2017. **Development of Rpaid and Low-cost Paper Based Sensing Platform for Bacterial Detection**. Procedia Technology 27 (2017): 146-148
- Ali, M. M., Christine, L. B., Sana J. A., Balamurali, K., Yingfu, L., Carlos D. M. F., and John D. B. 2017. **A Printed Multicomponent Paper Sensor for Bacterial Detection**. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses Pada 11 Januari 2018
- Akin, H. M. 2006. **Virologi Tumbuhan**. Yogyakarta: Kanisius
- Badan standarisasi Nasional. 2010. **Ayam Broiler**. (SNI 01-4258-2010). Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional
- Baraja. 2008. **Uji toksisitas Ekstrak Daun Ficus elastica Nois ex Blume terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis**. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Baratawidjaja, K.G. dan R. Iris. 2012. **Imunologi Dasar Edisi ke-8**. Jakarta: FKUI
- Brooks, G. F., Butel, J. S., dan M. Stephen. 2005. **Mikrobiologi Kedokteran Edisi 1**. Jakarta: Salemba Medika
- Burmester, G.R. and A. Pezzuto. 2003. **Color Atlas of Immunology**. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
- Burrry, R. 2010. **Immunocytochemistry**. New York : Springer
- Cao, R. 2015. **A Zero-Step Functionalization on Paper-Based Biosensing Platform for Covalent Biomolecule Immobilization**. Jurnal Sensing and Bio- Sensing Research. Vol 6: 13–18
- Chao, M. R., C. H. Hsien, C. M. Yeh, S. J. Chou, C. Chu, Y. C. Su, & C. Y. Yu. 2007. **Assessing the Prevalence of *Salmonella* Enterica in Poultry Hatcheries by Using Hatced Eggshell Membranes**. J. Pol Sci. 86:1651-1655
- Corcuera, J. I. R. D., and R. P. Cavalieri. 2003. **Biosensors**. New York : Marcel Dekker, Inc

- Costa, M. N., B. Veigas, J. M. Jacob, D.S. Santos, J. Gomes, P.V. Baptista, R. Martins, J. Inacio, and E. Fortunato. 2014. **A Low Cost, Safe, Disposable, Rapis and Self-sustainable Paper-based Platform for Diagnostic Testing: Lab-on-paper**. Nanotechnology 25 (2014) 094006 (12pp)
- Departemen Kesehatan RI. 2010. **Pedoman Pemantauan Status Gizi (PSG) dan Keluarga Sadar Gizi (KADARZI)**. Jakarta: Direktorat Jenderal Bina Kesehatan Masyarakat, Direktorat Bina Gizi Masyarakat
- Departemen Pertanian. 2010. **Tanya Jawab Seputar Telur Sumber Makanan Bergizi**. Jakarta.
<http://www.deptan.go.id/pengumuman/nak032010/Booklet%20Telur.pdf>.
 Diakses 22 November 2017 pukul 09.34
- Devananda, D. 2011. **Study of Outer Membrane Proteins (OMPs) of *Salmonella* spp. and Development of OMP and Virulence Based Rapid Diagnostics for Food and Clinical Sample**. Dissertation. Mangalore: Manipal University
- Direktorat Jenderal Peternakan. 2017. **Konsumsi Periode Tahun 2016**. Jakarta: Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementrian Pertanian
- Direktorat Jenderal Peternakan. 2017. **Produksi Telur Ayam Ras Petelur Menurut Provinsi (2013-2017)**. Jakarta: Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementrian Pertanian
- Emantoko, S. 2001. **Antibodi Rekombinan: Perkembangan Terbaru dalam Teknologi Antibodi**. Unitas, Vol. 9 No. 2: 29-43
- Espada, M., Martul, P., Aguayo, A., Grau, G., Vela, A., and A. Aniel-Quiroga. 2012. **Urinary Iodine and Thyroid Function in A Population of Healthy Pregnant Women in The North of Spain**. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology : Organ of The Society for Minerals and Trace Elements (GMS).27(4): 302-306
- Fagerlind, M., and L. H. Lindholm. 2007. **Detection of Quorum Sensing Signals by Agar-plate Based Bioassay, Laboratory Compendium for The Course Molecular Microbiology**. Swedia: University of Scovde
- Figoni, P. 2008. **Exploring The Fundamental of Baking Science 2nd Ed**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc
- Gandjar, I. G., dan A. Rohman. 2007. **Kimia Farmasi Analisis**. Yogyakarta: Pustaka Pelajar

- Gantois, I., R. Ducatelle, F. Pasmans, F. Haesebrouck, R. Gast, T. J. Humprey, and F. V. Immerseel. 2009. **Mechanisms of Egg Contamination by *Salmonella Spp.*** Fed. Eur. Mic. Soc. 33:718-738
- Ghozali, A. 2014. **Linearitas dan Limit Deteksi Biosensor Arsen dengan Elektrode Pasta Karbon Termodifikasi Zeolit-Fe.** Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Handono, J., Sastra, K. W., dan A. S. Ibrahim. 2017. **Deteksi Aglutinasi secara Otomatis untuk Uji Golongan darah Tipe ABO Berbasis Kertas.** Jakarta: Universitas Indonesia
- Hargitai, R., R. Mateo, J. Torok. 2011. **Shell Thickness and Pore Density in Relation to Shell Colouration Female Characteristic and Environmental Factors in The Colarred Flyctcher Ficedula Albicollis.** J. Ornithol . 152 : 579-588
- Haryadi. 2006. **Teknologi Pengolahan Beras.** Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Hossain, S. M. Z., Luckham, R. E., McFaden, M. J., and J. D. Brennan. 2009. **Reagentless Bidirectional Lateral Flow Bioactive Paper Sensors for Detection of Pesticides in Beverage and Food Samples.** Analytical Chemistry 81, 9055 – 9064. doi:10.1021/ac901714h
- Hygiena. **Environmental Salmonella Test.** Dilihat pada 31 Desember 2017. <<https://www.hygiena.com/insite-salmonella-other.html>>
- Indrawan, I.G., Made, S., dan I. K. Suada. 2012. **Kualitas Telur dan Pengetahuan Masyarakat tentang Penanganan Telur di Tingkat Rumah Tangga.** Indonesia Medicus Veterinus (5) : 607-620
- Kagan, I. A., and D. F. Michael. 2014. **Thin Layer Chromatography (TLC) Separations and Bioassays of Plant Extract to Identify Antimicrobial Compound.** Journal Vis: (85): 51411
- Jokers, J. C., Adkins, J. A., Bisha, B., Mentele, M. M., Goodrige, L. D., and C. S. Henry. 2012. **Development of A Paper-Based Analitical Devicce for Colorimetric Detection of Select Foodborn Pathogens.** Analytical Chemistry, 84(6), 2900-2907
- Kasih, N. S., 2012. **Pengaruh Lama Penyimpanan Daging Ayam Segar dalam Refrigerator Terhadap pH, Susut Masak, dan Organoleptik.** Banjarmasin: Universitas Islam Kalimantan Muhammad aryad Al Banjary
- Koyun, A., Esma, A., dan Yeliz. 2012. **Biosensor and Their Principle, A**

- Roadmap of Biomedical Engineers and Milistone.** Turkey: In Tech
- Kumar, R., Surendran, P. K., and N. Thampuran. 2008. **An Eight-hour PCR-based Technique for Detection of *Salmonella* Serovars in Seafood.** World Journal of Microbiology and Biotechnology. Volume 24, Number 5 ; 627-631
- Kurtini, T., K. Nova., dan D. Septinova. 2011. **Produksi Ternak Ungas.** Bandar Lampung: Universitas Lampung
- Levinson, W., 2008. **Review of Medical Microbiology and Immunology** ,10th edition. California: Mc Graw Hill: 133-142
- Liana, D., Burkhard, R., Justin, G., dan C. Edith. 2012. **Review:Recent Advances in Paper-Based Sensors.** Sensors volume 12: 11505-11526
- Martinez, A. W., Phillips, S. T., Whitesides, G. M., and E. Crrilho. 2010. **Diagnostics for The Developing World: Microfluidis Paper-Based Analytical Devices.** Anal. Chem, 82, 3 -10. doi:10.1021/ac9013989
- Merck. 2006. **Singlepath® *Salmonella* GLISA – Rapid Test (Gold Labelled ImmunoSorbent Assay) for The Presumptive Qualitative Detection of *Salmonella* spp. in Food.** Merck Microbiology Manual 12th Edition
- Meryandini, A., Widosari, W., Maranantha, B., Sunarti, T., Rachmania, N., dan H. Satria. 2009. **Isolasi Bakteri Selulotik dan Karakterisasi Enzimnya.** Makara Sains, 13(1), 33-38
- Moina, C., and G. Ybarra. 2014. **Fundamentals and Applications of Immunosensors.** Instituto National de Tecnologia Industrial, Republik Argentina
- Mustafa, F., Rabeay, Y. A. H., and S. Andreescu. 2017. **Multifunctional Nanotechnology-Enabled Sensors for Rapid Capture and Detection of Pathogens.**
- Nasa. 2013. **Paper-based Biosensor for rapid Colorimetric Detection of Pathogenic Bacteria Project.** USA: Center Innovation Fund
- Ningsih, A. U. 2009. **Identifikasi Hidrokuinon dalam Krim Pemutih Selebritis Night Cream dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis.** Medan: Universitas Sumatera Utara
- Notoatmodjo. 2002. **Metodologi Penelitian Kesehatan.** Jakarta : PT Rineka Cipta
- Nugraha, A. 2012. **Deteksi Bakteri *Salmonella* spp. dan Pengujian Kualitas Telur Ayam Buras.** Jurnal Indonesia Medicus Veterinus. Vol 1(3) : 320 – 329

- Odomeru, J., and C. Verlade. 2012. **Salmonella Detection Methods for Food and Food Ingredients**. Canada: University of Guelph, Ontario
- Office International Des Epizooties. 2000. **Fowl Typhoid and Pullorum Disease. In Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines**. pp. 697-698
- Pertiwi, N., Mahardika, I., dan N. Watiniasih. 2015. **Optimasi Amplifikasi DNA Menggunakan Metode PCR (Polymerase Chain Reaction) pada Ikan Karang Anggota Famili Pseudochromidae (Dottyback) untuk Identifikasi Spesies Secara Molekular**. Jurnal Biologi No 19(2) Volume 1-5. Bali: Universitas Udayana
- Poeloengan, M., Komala, I., and S. Noor. 2014. **Bahaya Salmonella Terhadap Kesehatan**. Bogor: Balai Besar Penelitian Veteriner
- Portillo, F. G., 2000. **Molecular and Cellular Bof Salmonella Pathogenesis in Microbial Foodborne Disease : Mechanisms of Pathogenesis and Toxin Synthesis**. First Edition. Pennsylvania: Technomic Publishing Company., Inc
- Rodriguez, M.C., and G. A. Rivas. 2002. **Glassy Carbon Paste Electrode Modified with Polyphenol Oxidase Analytical Applications**. J. Anal Chim Acta, p. 43-51
- Runyon, M., Kyung-Min Lee., and T. Herrman. 2015. **Review of Salmonella Detection and Identification Methods: Aspects of Rapid Emergency Response and Food Safety**. Food Control: 264-276
- Serbeniuk, F. 2002. **Non typhoidal Salmonella**. http://www.wou.edu/las/natsci_math/biology/boomer/Bio440/emerging2002/Salmonella2. Diakses pada tanggal 24 Oktober 2014 pukul 21.25
- Slonane, E. 2005. **Anatomy and Phsyology: An Easy Learner**. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Sigma Aldrich. **Whatman® Qualitative Filter Paper, Grade 1**. Dilihat pada 25 Desember 2017. <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/z240095?lang=en®ion=ID>>
- Situmorang, M., Silitonga, P.M., Nurwahyuni, I., Butar-butur, A., dan M. Nainggolan. 2007. **Rancang Bangun Biosensor Elektrokimia Dalam Sistem Flow Injeksi Analisis Untuk Penentuan Kolesterol di Dalam Makanan dan Minuman**. Jurnal Sains Indonesia 30(4): 125-130

- Sjahid, L. R. 2008. **Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.)** Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Sorbtech. 2017. **Thin Layer Chromatography Plates**. USA: Sorbent Technologies, Inc
- Supardi, I. dan Sukamto. 1999. **Mikroorganisme penyebab penyakit menular. Dalam Mikrobiologi dalam pengolahan dan keamanan pangan**. Edisi Pertama, Yayasan Adikarya IKAPI dengan The Ford Foundation. Hal. 157-173
- Suprati, L. 2002. **Pengawetan Telur**. Yogyakarta: Kanisius
- Sutejo, J. 2016. **Pengaruh Pendidikan Kesehatan Tentang Penyakit Bawaan Makanan Terhadap Pengetahuan Siswa/ Kelas IV, V Dan VI Mengenai Penyakit Bawaan Makanan Disekolah Dasar 060929 Medan Johor**. Skripsi. Medan: Fakultas Keperawatan. Universitas Sumatera Utara
- Tarigan. 2011. **Penggunaan Polymerase Chain Reaction Enzyme Linked Oligonucleotide Sorbent Assay (PCR-ELOSA) untuk Deteksi Agen Penyakit**. Bogor : Balai Besar Penelitian Veteriner
- Thermo Fisher. 2011. **Nitrocellulose Transfer Membranes**. Rockford: Thermo Fisher Scientific, Inc
- Thermo Scientific. 2010. **ELISA Technical Guide and Protocols**. Rockford: Thermo Scientific, Inc
- Todar, K. 2008. **Salmonella and Salmonellosis**. <http://www.textbookofbacteriology.net/Salmonella.html>. Diakses pada tanggal 25 Oktober 2017 pukul 09.45
- Vertical Chromatography. 2011. **VertiPlate™ Flexible Backed TLC Plates**. Vertical Chromatography, Co, Ltd
- Wendra, M. P. N., 2004. **Modifikasi Elektroda Pasta Karbon menggunakan Enzim Poloifenol Oksidase dari Jaringan Pisang untuk Analisis Senyawa Fenolik**. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Windiani, D., dan D. Ari. 2014. **Variasi Resep Praktis**. Fmedia, ISBN:9790065221
- Wohlgemuth, R. 2008. **Life Science Bio Files. Substrate System for Enzyme Detection**. Singapura: Sigma Life Science
- Yuwanta, T. 2010. **Telur dan Kualitas Telur**. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press

Zourob, M. 2008. **Principles of Bacterial Detection. Biosensors, Recognition, Receptors and Microsystem.** New York: Springer Science & Business Media